

T H E S E S
présentées
A LA FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITE DE LYON
pour obtenir
le grade de DOCTEUR ès-SCIENCES NATURELLES
par
Henri PACHECO
Attaché de Recherches au C.N.R.S.
Licencié ès-Sciences

Première Thèse

"SUR LA BIOTRANSFORMATION DE L'ACIDE INDOL-ACETIQUE ET DE
QUELQUES SUBSTANCES SYNTHÉTIQUES À PROPRIÉTÉS
PHYTOHORMONALES"

Deuxième Thèse

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTE

Soutenues le 23 Mai 1952 devant la Commission d'examen :

M. KUHNER

Président

MENTZER

Membres du Jury

COLONGE

T H E S E S

présentées

A LA FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITE DE LYON

pour obtenir

le grade de DOCTEUR ès-SCIENCES NATURELLES

par

Henri PACHECO

Attaché de Recherches au C.N.R.S.

Licencié ès-Sciences

Première Thèse

"SUR LA BIOCHIMIE DE L'ACIDE INDOL-ACETIQUE ET DE
QUELQUES SUBSTANCES SYNTHETIQUES A PROPRIETES
PHYTOHORMONALES"

Deuxième Thèse

PROPOSITIONS DONNEES PAR LA FACULTE

Soutenues le 23 Mai 1952 devant la Commission d'examen :

MM. KUHNER

Président

MENTZER

Membres du Jury

COLONGE

A Monsieur Ch. LENTZER,

Maître de Conférences à la
Faculté des Sciences de LYON -

Il a guidé avec compétence, et
sollicitude l'élaboration de ce travail et
nous a initiés à la Biochimie.

Nous lui exprimons très
sincèrement notre vive et respectueuse
gratitude.

A ma Femme, à mon Fils,

A mes Parents,

A ma Soeur,

A mes Camarades de Laboratoire.

--- AVANT-PROPOS ---
=====

Avant d'exposer le présent travail qui a été effectué de 1948 à 1952 au Laboratoire de Chimie Biologique de la Faculté des Sciences de LYON,

qu'il nous soit permis d'exprimer à notre Maître, Monsieur Ch. MEITZER, notre sincère reconnaissance pour l'enthousiasme avec lequel il a soutenu nos efforts.

Nous exprimons à Monsieur P. MEUNIER, Maître de Conférences à la Faculté des Sciences de LYON, Directeur du Laboratoire de Chimie Biologique, toute notre gratitude pour le bienveillant intérêt qu'il nous a témoigné envers notre travail.

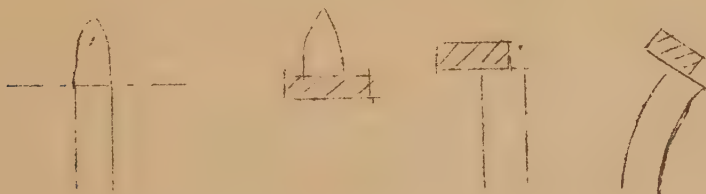
.. Nous présentons à Monsieur le Professeur KUHNER nos très vifs remerciements pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider notre Jury.

Nos remerciements vont également à Monsieur le Professeur COLONGE.

Nous ne saurions enfin oublier d'exprimer notre gratitude au Centre National de la Recherche Scientifique pour l'appui matériel qui a permis d'effectuer ce travail.

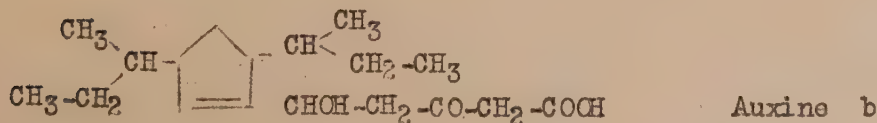
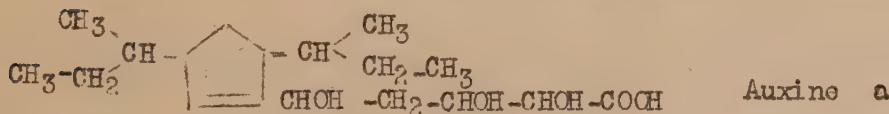
INTRODUCTION

Depuis longtemps, on a soupçonné que la croissance des végétaux dépend d'un équilibre harmonieux de nature humorale. Dès 1880, Sachs (84) songea à l'existence de substances capables de provoquer la formation de racines, de feuilles et de bourgeons. Mais il fallut attendre les expériences de Boysen-Jensen (1910) pour que la théorie humorale de la croissance s'évadât du domaine de la spéculation. Boysen-Jensen (14) remarqua qu'en coupant la pointe du coléoptile d'avoine, il supprimait le phototropisme et que ce phénomène réapparaissait s'il remettait la pointe en place. Entre 1914 et 1918, Paal (70) démontra que l'incurvation phototropique est due à un agent humoral. Enfin, Went (100) réussit à capter la substance active : la pointe du coléoptile est placée, pendant un certain temps, à la surface d'une petite plaque de gélose où diffuse la substance de croissance. La plaque de gélose seule acquiert alors la propriété de provoquer la courbure du coléoptile décapité, à condition d'être appliquée seulement sur la moitié de la surface de la section.



L'ampleur de la courbure est fonction de la quantité de substance active. Cette expérience a permis à Went non seulement de capter un agent d'élongation cellulaire mais encore de doser celui-ci. Ce dosage a été à la base d'une grande partie des découvertes ultérieures dans ce domaine.

Munis de ce test précieux, Kögl, Haagen-Smith et Ille Erxleben ont cherché une source plus riche en hormone que le coléoptile d'avoine. Ils ont finalement retenu l'urine, préférentiellement à un grand nombre de plantes, à cause de sa teneur élevée en substance active. Ils réussirent à isoler (47) deux substances auxquelles Kögl a donné le nom d'auxine a et b et dont la structure chimique a été établie dès 1933. Peu après, les mêmes biochimistes ont isolé, toujours à partir de l'urine, une troisième substance qu'ils ont appelé l'hétéro-auxine et qui est l'acide indol-acétique.



Les auxines a et b ont pu être isolées à l'état cristallisé non seulement de l'urine mais encore du malt. D'autre part, la mesure de la vitesse de diffusion de la substance abandonnée par le coléoptile d'avoine à la gélose a conduit Went à lui attribuer un poids moléculaire de 300. A la lumière de ces faits, il semble bien que les auxines a et b soient de véritables phytohormones, mais la difficulté de réaliser leur synthèse, malgré la tentative de O.A. de Bruin (16), a relégué leur étude physiologique et biochimique au second plan.

En contre-partie, deux séries de faits ont contribué à développer les connaissances relatives à l'acide indol-acétique. D'abord, ce corps peut être préparé facilement en cyclisant, par la méthode de Fisher, la phényl-hydrazono du formyl-propionate d'éthyle. Ensuite, il a été décelé dans différentes plantes supérieures. Dès 1938, Lefèvre (53) l'avait mis en évidence mais on a douté de la spécificité de son test colorimétrique. Le doute concernant l'existence de l'acide indol-acétique a été levé en 1942 par Berger et Avery (6), en 1944 par Smith, en 1948 par Haagen-Smith (33). Ces derniers ont pu isoler, à partir d'une centaine de kilos de graines de maïs récoltées avant maturité, environ 500 mg d'acide indol-acétique. La découverte de l'hétéroauxine a ouvert plusieurs voies de recherches dont nous allons, dès maintenant, indiquer les grandes lignes, afin qu'il soit plus facile de situer et de délimiter nos travaux personnels.

Il s'avère actuellement que l'acide indol-acétique a une répartition assez générale et joue, de ce fait, un rôle important dans la physiologie de la croissance chez beaucoup de végétaux. Aussi, divers groupes de chercheurs se sont attachés à l'étude du métabolisme de l'hétéroauxine. Malgré la multiplicité des travaux, effectués surtout aux Etats-Unis, il reste encore de nombreux points obscurs, surtout en ce qui concerne la dégradation. Les méthodes d'étude du métabolisme habituellement utilisées se heurtent à une grave difficulté quand il s'agit de déterminer l'identité chimique d'un composé, contenu à très faible concentration dans un milieu biologique complexe. Aussi, avons nous essayé d'introduire dans l'étude du métabolisme de l'acide indol-acétique et plus particulièrement dans la recherche et la caractérisation des produits de dégradation une microméthode qui a rendu et rend encore, par ailleurs, de remarquables services : la chromatographie de partage sur papier. Les résultats acquis par nous, puis peu après par d'autres auteurs sont encore limités, mais laissent augurer qu'il sera plus aisé, dans un avenir très proche, d'étudier le mécanisme d'action de l'hétéroauxine, en examinant l'influence qu'elle exerce sur divers chaînons métaboliques.

Si la connaissance des réactions biochimiques qui président à la croissance des végétaux attire l'intérêt de certains biochimistes, très rapidement s'est forgée l'idée de créer d'autres substances capables de remplacer l'acide indol-acétique ou au contraire susceptibles d'inhiber le développement de certaines plantes. Pour examiner les

propriétés biologiques de telles substances, il fallait, au préalable, être munis de tests biologiques spécifiques dont la mise en oeuvre fût moins délicate que celle du coléoptile d'avoine. Nombreux sont les tests qui ont été mis au point. Grâce à eux, on a pu trouver des corps qui manifestent les mêmes effets que l'acide indol-acétique mais qui ont souvent l'avantage d'être plus faciles à préparer et ont, de ce fait, un rôle économique important, par leurs applications en agriculture : désherbage sélectif, protection contre la chute des fruits, bouturage (57).

Notre préoccupation a été aussi de chercher de telles substances et d'examiner dans quelle mesure leur action peut s'expliquer par leur intégration dans le métabolisme de l'hétéroauxine; cela a nécessité un travail de chimie organique : synthétiser des composés connus ou nouveaux, et un travail biologique : soumettre les produits préparés à différents tests.

- PREMIERE PARTIE -
=====

DU METABOLISME DE L'ACIDE INDOL-ACETIQUE

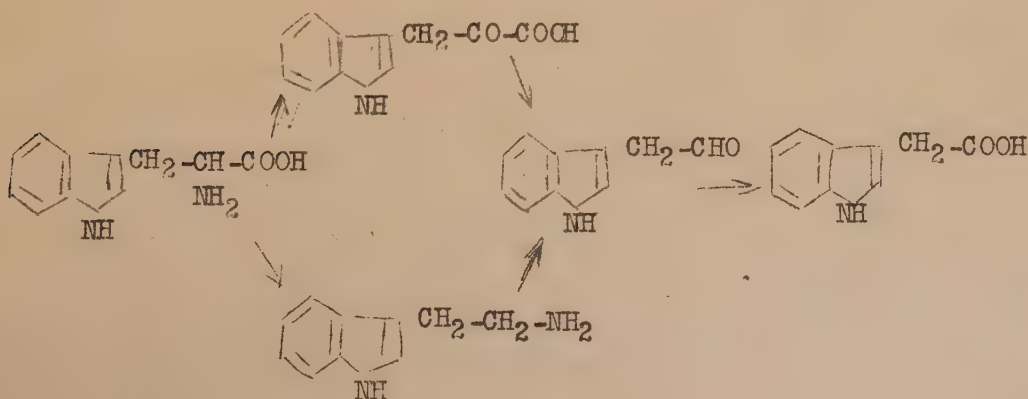
1° - CHAPITRE --

=====

ETAT ACTUEL DE NOS CONNAISSANCES SUR LE
METABOLISME DE L'ACIDE INDOL-ACETIQUE (10)

Il est maintenant bien démontré que l'acide indol-acétique provient de la dégradation enzymatique du tryptophane. Si on injecte dans des feuilles une solution de tryptophane, on trouve, après incubation, une concentration en hétéroauxine bien supérieure à celle des tissus non traités (103). De plus, on a pu convertir le tryptophane en acide indol-acétique en mettant l'acide aminé en présence de préparations enzymatiques de différentes provenances : feuilles - coléoptiles d'avoine - cultures tumorales. Plusieurs faits tendent à prouver que l'indol-3 acétaldéhyde est sans doute un intermédiaire de la dégradation du tryptophane en hétéro-auxine; ce dérivé est un constituant normal de certaines plantes (31). Il est oxydé en acide indol-acétique par certaines préparations enzymatiques (51).

L'étape intermédiaire entre le tryptophane et l'indol-3-acétaldéhyde est encore incertaine et il est possible que deux voies différentes soient utilisées. L'acide indol-pyruvique, produit de désamination oxydative du tryptophane, peut être converti par réaction enzymatique en acide indol-acétique (dans les feuilles d'épinard par exemple) mais on n'a pas encore mis en évidence la formation enzymatique de l'acide indol-pyruvique dans les plantes. D'un autre côté, le tryptamine, produit de décarboxylation du tryptophane et constituant normal de plusieurs plantes, peut être dégradés sous l'action d'un enzyme en acide indol-acétique, mais on n'a pas encore décollé, chez les plantes supérieures, d'acide aminé décarboxylase dégradant le tryptophane en tryptamine (102). Très récemment, on a réussi à isoler et à identifier, dans un extrait de chou-fleur, l'indol-acétonitrile qui provient manifestement du tryptophane (43). Il faut encore attendre, pour donner à ce nitrile une signification physiologique, de savoir s'il est présent dans d'autres plantes.



Il est utile de préciser que l'acide indol-acétique est une hormone, au sens propre du mot, parce qu'il est synthétisé dans des centres particuliers; à partir de ceux-ci, il est transporté vers d'autres tissus qui l'utilisent pour leur croissance. Le système enzymatique convertissant le tryptophane en hétéroauxine est distribué dans la plante de telle façon que les plus hautes concentrations en enzyme sont localisées précisément dans les tissus qui sont connus pour leur aptitude à synthétiser l'hétéroauxine.

Celle-ci existe, comme l'ont montré de multiples expériences, sous forme libre et sous forme liée. Elle peut être inactivée, sans être détruite, par des enzymes contenus dans différentes plantes. Elle entre alors en liaison peptidique avec une protéine dont elle peut être libérée à nouveau par des enzymes protéolytiques. Il est probable que, sous cette forme liée, elle constitue une forme de réserve dont nous aurons l'occasion, plus loin, de discuter la signification physiologique. Il a été établi qu'un facteur de croissance est lié à une protéine dans les feuilles de *Lemna* (90) - de tabac - de tomates - dans l'algue verte *Ulva lactuca* (96). Dans les feuilles d'épinard, Bonner et Wildmann (104) ont trouvé 95 % du facteur de croissance sous forme combinée et seulement 5 % à l'état libre. Plus récemment, Moews, en utilisant le test des racines de cresson, a montré qu'un jus de pomme de terre ayant subi l'hydrolyse pancréatique, renferme 100 fois plus de substance de croissance que le jus non hydrolysé (67).

Dans toutes les expériences précédentes, on dose à l'aide de tests biologiques d'une sensibilité très élevée, l'activité phytohormonale de tissus broyés avant puis après l'hydrolyse protéolytique. Les auteurs expriment fréquemment en acide indol-acétique la teneur en substance de croissance, mais souvent la nature de celle-ci laisse planer une incertitude. De plus, la valeur de la concentration donnée par le dosage risque d'être la résultante de plusieurs facteurs entre lesquels une synergie ou un antagonisme est possible.

En dehors de cette possibilité d'être inactivé par une combinaison à une protéine, l'acide indol-acétique est susceptible d'être dégradé par oxydation. Les tissus d'un grand nombre de plantes étiolées (petit-pois - avoine - tournesol, etc ...) contiennent un système enzymatique qu'on peut considérer comme une oxydase de l'acide indol-acétique (93): cet enzyme s'obtient facilement à l'état brut, en broyant des épicotyles de pois étiolés par exemple. Son pH optimum, dans ce cas, est compris entre 6,2 et 6,7. Il est inhibé par KCN et CO, poisons des métaux lourds, et paraît de ce fait, contenir un métal lourd comme groupement prosthétic essentiel. Il attaque l'acide indol-acétique en utilisant une molécule d'oxygène et en dégageant une molécule de CO₂ par molécule d'hétéroauxine. Cette réaction donnerait de l'indol-aldéhyde qui ne possède pas d'activité de croissance (94).



La fonction de cet enzyme serait de régler la teneur en hormone, idée étayée par la présence de l'enzyme dans les racines. En effet, la croissance de celle-ci est inhibée par de hautes concentrations en acide indol-acétique et le rôle de l'enzyme serait d'éviter l'accumulation de concentrations excessives de l'hétéroauxine.

Les végétaux offrent une grande dépendance vis-à-vis du milieu ambiant et particulièrement vis-à-vis des radiations lumineuses. Il n'est donc pas étonnant qu'il existe d'autres processus de dégradation de l'acide indol-acétique que celui décelé chez des plantes ayant poussé dans des conditions anormales d'éclairement. Et de fait, beaucoup de tissus verts contiennent habituellement d'autres systèmes que l'acide indol-acétique-oxydase, capables eux aussi de dégrader irréversiblement l'hétéroauxine, mais la nature exacte de ces systèmes enzymatiques n'est pas encore très claire.

La destruction de l'acide indol-acétique, dans des extraits de plantes, est augmentée, quand de tels extraits sont placés à la lumière vive. Le phénomène est particulièrement net si le milieu contient de petites quantités de carotène (52).

D'autre part, l'acide indol-acétique, ainsi que d'autres composés contenant le noyau indole, sont rapidement détruits par photooxydation. Le phénomène est accéléré par certaines substances (23) et en particulier par la riboflavine qui serait, selon Galston, l'élément récepteur responsable du phototropisme (25). Cette vitamine agent absorbant de la lumière, est oxydée réversiblement et, une fois oxydée, elle est réduite aux dépens de l'acide indol-acétique.

De cet exposé succinct sur l'état actuel de nos connaissances sur le métabolisme de l'hétéroauxine, deux faits ressortent avec netteté.

- les tests biologiques utilisés pour déceler et doser, dans des milieux biologiques, les facteurs de croissance des végétaux, et plus particulièrement l'hétéroauxine, s'avèrent très sensibles mais ils ne permettent pas une identification de la nature chimique des composés parce que leur spécificité n'est pas absolue.

- seule la biogénèse de l'acide indol-acétique, à partir du tryptophane, a été très étudiée; en effet, la connaissance des différentes étapes chimiques de ce chaînon métabolique est facilitée du fait que, si les composés intermédiaires susceptibles de se former (tryptamine - acide indol-pyruvique - indol-acétaldéhyde) sont soumis à l'action de certains enzymes contenus dans les plantes, les tests biologiques décelent un accroissement de l'activité phytohormonale dû, sans conteste, à l'hétéroauxine formée. Mais si celle-ci est mise en présence de préparations enzymatiques qui la dégradent, il se forme des substances dépourvues de caractère phytohormonal et, par conséquent, inactives sur les tests biologiques.

Quand des milieux renferment des quantités de substances actives de l'ordre de 10^{-8} , on ne peut guère songer à les caractériser chimiquement dans ces milieux ni à les extraire, car on se heurte à la difficulté de trouver des réactions colorées spécifiques et à la longueur des travaux de fractionnement. Il paraissait donc souhaitable d'apporter une méthode sensible, simple dans sa mise en oeuvre, permettant d'isoler, d'identifier et de doser d'une part les facteurs de croissance, d'autre part les produits de dégradation de ceux-ci.

La chromatographie de partage sur papier semblait indiquée car, grâce à celle, on arrive, dans beaucoup de cas, à caractériser les quantités de corps de l'ordre de 1 à 10⁻¹¹ (11). C'est pourquoi nous avons pensé l'appliquer à l'étude du métabolisme de l'acide indol-acétique.

- 2° CHAPITRE -
=====

SUR UNE NOUVELLE METHODE D'ETUDE DU METABOLISME DE L'ACIDE

INDOL-ACETIQUE

I - Identification de l'acide indol-acétique dans un milieu
biologique - (73)

- Introduction -

Pour examiner les possibilités de la chromatographie de partage sur papier dans l'étude du métabolisme de l'hétéroauxine, nous nous sommes préoccupés, en premier lieu, de savoir s'il était possible, à l'aide de cette technique, de l'isoler à partir d'un milieu complexe et de l'identifier. Il était sage de s'adresser d'abord à un milieu susceptible de renfermer une dose assez importante de ce corps, par exemple un jus de pommes de terre ayant subi une hydrolyse pancréatique et dont l'activité phytohormonale équivaut, selon Koevus, à celle d'une solution contenant $10 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ d'hétéroauxine (67).

- Chromatographie de l'acide indol-acétique -

Avant de soumettre au fractionnement chromatographique un mélange susceptible de renfermer de l'acide indol-acétique, il fallait déterminer si ce corps pur, en solution, se prête à la séparation et à l'identification sur des bandes de papier. Deux questions étaient à résoudre :

- Quel système de solvant convient pour entraîner la substance sur les chromatogrammes ?

- Quel réactif utiliser pour révéler l'emplacement de la substance sous forme de taches colorées ?

La littérature indique de nombreuses réactions colorées données par l'hétéroauxine. la plus classique, celle de Salkowski, consiste à chauffer dans un tube à essai une solution diluée de l'acide organique avec un acide minéral concentré (SO_4H_2 ou ClH) en présence d'un peu de perchlorure de fer (85). Dans ces conditions, il se développe une coloration rouge. Cette réaction, malgré sa sensibilité, ne peut être utilisée pour révéler les chromatogrammes qui sont détériorés par les acides concentrés. L'acide acétique pur donne par contre des résultats satisfaisants. En vaporisant sur les chromatogrammes une solution de perchlorure de fer dans l'acide acétique (1 cm^3 de Cl_2Fe à 33°C dans 20 cm^3 d'acide acétique cristallisable), l'hétéroauxine se révèle nettement; les taches qui apparaissent après un court chauffage (5 minutes à 100°), ont une couleur allant du rose au rouge vineux, suivant la concentration, tandis que le papier

jaunit légèrement. Des résultats analogues sont obtenus avec le réactif d'Ehrlich ($\times$), à condition de maintenir les chromatogrammes 5 minutes à 110°. Les mêmes réactifs peuvent servir à révéler d'autres indols : indole, scatole - acide méthoxy-5 indol-acétique. Voici, réunis dans le même tableau, les R_F de ces corps et ceux de l'hétéroauxine pour des systèmes de solvants différents :

Solvants	Indol-acétique	Méthoxy-5 indol-acétique	Indole	Scatole
Butanol/eau	0,95 à 20-22°		0,96	0,97
Phénol/eau	0,82 à 20-22°			
AcOH 15 % Eau 85 %	0,77 à 20-22°	0,73 à 20-22°	taches diffuses	taches diffuses
AcOH 60 % Eau 40 %	0,84 à 20-22°	0,84 à 20-22°		
Isopropanol 60 % Eau 40 %	0,92 à 17-18°	0,91 à 17-18°		
Taches avec Cl_3Fe (5 min. à 100°)	rose à rouge vieux.	violet clair à violet sombre.	Violet lilas.	violet sombre

- Détection de l'acide-indol-acétique dans le jus de pomme de terre -

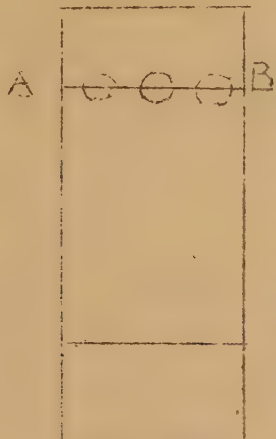
Après ce travail préliminaire, nous avons recherché jusqu'à quelle limite de dilution de l'acide indol-acétique peut être extrait par l'éther d'un milieu biologique complexe comme le jus de pomme de terre; à cet effet ont été préparés des milieux contenant 100-10-1,- 0,1 % /cm³ d'hétéroauxine. Celle-ci s'extrait encore très bien à la concentration de 1 % /cm³ de jus de pomme de terre, à condition d'utiliser de l'éther privé de peroxyde et peut être aisément caractérisée, après concentration des extraits étherés, par chromatographie de partage sur papier. Cette technique paraissait donc applicable, puisque le jus de pomme de terre avant subi l'action de la pancréatine doit renfermer, selon Moovus, une quantité de substance de croissance de 10 % /cm³.

1 - Partie expérimentale -

Des pommes de terre nouvelles (Solenum Tuberssum - variété "quenelles" récoltées en avril) sont lavées à l'alcool, râpées et pressées dans un linge. A 100 cm³ du filtrat, on ajoute 500 mg de pancréatine Codex. Le pH est ajusté à 7 avec NaOH Onl N. Le liquide est abandonné à l'étuve à 27° pendant 24 heures. Une partie des protéines est alors précipitée par la chaleur en portant le jus au bain-marie pendant 2 minutes à 100°. Filtrer à chaud. Quand le liquide est refroidi, acidifier jusqu'à pH 2 avec de l'acide sulfurique dilué pour précipiter le restant des protéines. Filtrer à nouveau. Le liquide est épuisé à trois reprises avec un égal volume d'éther soigneusement

($\times$) - 0,5 g de N-diméthyl-para-amino-benzaldéhyde sont dissous dans 100 cm³ d'alcool éthylique. On ajoute 1 cm³ de ClH concentré.

privé de peroxyde. L'éther est chassé sous vide jusqu'à ce que le volume de la solution étherée soit ramené à 0,5 cm³. Cette solution est soumise à la chromatographie de partage sur papier en une dimension.



A cet effet, on a utilisé des bandes de papier Whatmann n°1, larges de 4 cm. Sur le trait AB, sont tracés trois cercles de 5 mm de diamètre. Sur chaque cercle, une goutte de solution étherée est déposée, dont le volume est de l'ordre de 5 mm³. Sur le cercle n°3, une fois que l'éther est évaporé, on dépose en plus une goutte d'une solution pure d'acide indol-acétique dans l'éther, contenant environ 10 % de ce corps. Les opérations sont arrêtées quand le front du liquide a migré d'une quinzaine de cm. Elles ont été effectuées à 20-22°. Les bandes de papier sont séchées à l'étuve 5 minutes à 100°, et révélées comme il a été indiqué plus haut.

2°/- Résultats -

La chromatographie avec le système butanol-eau donne, outre plusieurs taches fluorescentes à la lumière de Wood et de nature encore inconnue, deux taches correspondant aux cercles 1 et 2 ayant le même R_F que l'acide indol-acétique témoin ajouté dans le cercle n° 3. Avec le système phénol saturé d'eau apparaissent aussi deux taches dont R_F correspond à celui de l'indol-acétique témoin. En comparant l'intensité et la superficie des taches 1 et 2, à celles de la tache 3, on trouve que la quantité d'hétéroauxine qu'on a déposée est de l'ordre de 5 %. On déduit facilement que le jus de pomme de terre doit contenir approximativement 5 % par cm³ d'acide indol-acétique, valeur sensiblement en accord avec celle avancée par Loevus.

3°/- Discussion des résultats -

Il est donc établi, grâce à la chromatographie de partage sur papier, qu'un jus de pomme de terre hydrolysé par la pancréatine contient, en quantité notable, de l'acide indol-acétique. La signification physiologique de la présence de ce corps dans les tubercules de pommes de terre sera discutée dans un autre chapitre. Ici ne sera envisagée que la valeur de la technique dans la détection de l'hétéroauxine et d'autres facteurs de croissance à activité phytohormonale.

On avait déjà réussi à séparer les auxines du chou par la technique des contre-courants (41), et Linser avait séparé et identifié l'acide indol-acétique dans des extraits de plantes par adsorption sur alumine, suivie d'une élution (54). Ces techniques sont loin de présenter la simplicité de la chromatographie de partage sur papier qui, à cause de cet avantage, a été également utilisée, peu après nous, par Luckwill (56), puis par Bennet-Clark, Tambiah et Kofford (5) pour détecter différents facteurs dans des extraits de plantes ou dans l'urine. Ces auteurs, cependant, ne révèlent pas l'emplacement des substances sous forme de taches colorées mais découpent les chromatogrammes en bandes transversales. Ils éluent par l'eau les substances fixées sur chaque bande et les dosent par des tests biologiques: élongation de coléoptiles de blé. En plus de l'hétéroauxine, ils ont décelé un autre facteur de croissance dont le R_F est différent et même des inhibiteurs. A la lumière de ces résultats, il n'est donc pas prouvé que l'activité évaluée par Loevus soit uniquement due à l'acide indol-acétique.

La technique qui consiste à révéler sur les chromatogrammes les substances sous forme de taches colorées (à l'aide d'un réactif approprié) ou d'un examen visuel en lumière ultra-violetto) ne convient donc que si on recherche une substance déterminée, mais elle est la seule qu'on puisse utiliser pour l'identification des produits de dégradation de l'acide indol-acétique, parce que ceux-ci sont dépourvus d'activité phytohormonale.

II - Identification des produits de dégradation de l'acide indol-acétique -

A) - Introduction -

Afin d'élucider la structure des produits provenant de la dégradation de l'acide indol-acétique sous l'action de certains enzymes, nous nous sommes adressés à un système d'oxydation catalytique artificiel et nous avons caractérisé les produits formés par chromatographie de partage sur papier. En effet, les réactions modèles réalisées in vitro conduisent souvent à la formation des mêmes composés que les réactions enzymatiques. Ainsi, le tryptophane (I) soumis à l'action de l'ozone se dégrade en formyl-cynurénine (II), composé que l'on trouve dans les milieux biologiques (18).



B) - Identification des produits d'oxydation de l'acide indol-acétique par l'eau oxygénée en présence de molybdate d'ammonium -

A priori ont été évités les systèmes d'oxydation catalytique violents ou qui donnent des composés qu'on ne trouve certainement pas in vivo; tel est le cas du perchlorure de fer qui détermine la formation d'uroroséine (85).

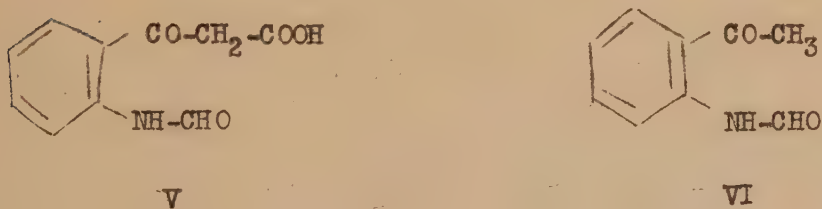
L'action de l'ozone, comme l'ont montré d'une part Witkop (105) et d'autre part, C. Mentzer, D. Molho et Y. Berguer (7), sur divers indoles substitués, aboutit à des produits de coupure parfaitement déterminés. Mais aucun de ces auteurs n'a envisagé l'action de l'ozone sur l'acide indol-acétique.

Il nous a paru de beaucoup préférable d'utiliser H_2O_2 en présence de molybdate d'ammonium, suivant la technique dont Raacke-Fells et Coll. (81) se sont servis pour oxyder le 3-naphtol en acide o-carboxy-cinnamique et que C. Mentzer et Y. Berguer (58) ont utilisé pour dégrader certains indols substitués en 2 ou en 3 (III).

Plusieurs faits expérimentaux ont contribué à nous faire une idée a priori sur la nature des produits pouvant se former par oxydation de l'acide indol-acétique. L'attaque du noyau indolique par l'ozone ou l'eau oxygénée en présence de molybdate d'ammonium donne les mêmes produits terminaux. D'une manière générale :



On pouvait penser que si l'oxydation de l'acide indol-acétique s'effectuait selon le même processus, il se formerait, sous l'action de H_2O_2 et du molybdate d'ammonium, l'acide formyl-amino-2-benzoyl-acétique (V) ou la formyl-amino-2-acétophénone (VI)



Si notre hypothèse était exacte, il devait être possible d'identifier un de ces composés, il n'a pas paru nécessaire d'opérer l'oxydation de l'acide indol-acétique sur de grandes quantités. En effet, Tabone (92) avait déjà montré que l'o-amino-acétophénone se caractérise aisément par chromatographie de partage sur papier et pour cette technique quelques γ de substances sont suffisants.

1 - Technique d'oxydation -

Dans un erlenmeyer de 10 cm³, introduire successivement :

acide indol-acétique	70 mg
acide acétique cristallisable	2,4 cm ³
molybdate d'ammonium à 1 %	2 gouttes
H ₂ O à 110 volumes	0,4 cm ³

la solution est abandonnée 24 heures à la température ambiante puis versée sur 20 cm³ d'eau. Elle est alors épuisée à l'éther avec un appareil à extraction continue pendant 2 heures. L'éther est évaporé. La solution est alcalinisée avec de la soude normale puis de nouveau épuisée pendant 2 heures avec de l'éther. Le solvant est chassé sous vide jusqu'à ce que son volume soit réduit à 0,5 cm³.

2 - Identification des composés formée :

Une goutte de la solution étherée est soumise à la chromatographie de partage sur papier en une dimension. Divers systèmes de solvants ont été utilisés. Le butanol donne des taches très floues. L'alcool isoamylique seul en en présence de vapeurs de ClH donne des taches beaucoup plus nettes. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec des solutions constituées par des mélanges d'eau et d'acide acétique.

Avec chacun de ces solvants, le produit d'oxydation de l'hétérotuxine a le même comportement chromatographique que l'o-amino-acétophénone. L'identification a été facilitée par le fait que ce corps donne une coloration orangée, à froid, avec le réactif Ehrlich. Une confirmation de la nature de la substance est apportée par la fluorescence bleue de la tache, quand on l'examine à la lumière ultra-violette, avant vaporisation du réactif.

Valeurs des R_F de l'o-amino-acétophénone

Température	R _F	Solvants
16°	0,9	Alcool isoamylique
20°	0,74	Alcool isoamylique (vapeurs ClH)
20°	0,77	AcOH 15 % - Eau 85 %
20°	0,92	AcOH 60 % - Eau 40 %

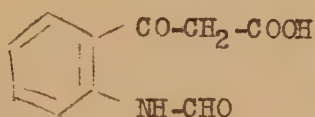
3 - Discussion des résultats -

Notre hypothèse, basée sur des résultats expérimentaux antérieurs, est confirmée : l'oxydation de l'acide indol-acétique par l'eau oxygénée en présence de molybdate d'ammonium donne naissance à l'o-amino-acétophénone. En réalité, il se forme d'abord la

formyl-amino-2 acétophénone que l'acide acétique hydrolyse aisément pendant le léger chauffage à l'appareil d'extraction continue. Le dérivé formylé s'obtient sans décomposition, si l'extraction est faite à froid dans une ampoule à décanter, sa réaction orangée avec le réactif d'Ehrlich ne se développe bien qu'à chaud.

Le rendement en o-amino-acétophénone est de l'ordre de 40 %. Il apparaît d'autres composés dont la nature n'est pas encore établis mais on n'a décelé aucune trace d'acide anthranilique.

On pouvait se demander si la décarboxylation de l'acide indol-acétique précède l'ouverture oxydative du noyau indole, avec formation intermédiaire de scatole, ou si le noyau indole est oxydé d'abord, donnant l'acide (V) :



V

Aucune trace de scatole ni d'acide formyl-amino-2 benzoyl-acétique n'a été décelée. Le fait que nous ayons réussi à dégrader le scatole en o-amino-acétophénone par la même technique d'oxydation pourrait constituer un argument en faveur de la première hypothèse sur le mécanisme de la réaction.

Ce mécanisme doit être assez général. En effet, la même technique d'oxydation, appliquée à l'acide méthoxy-5 indol-acétique, conduit à la méthoxy-5-amino-2 acétophénone qui a été identifiée et révélée de la même façon que l'o-amino-acétophénone.

Valeurs des R_F de la méthoxy-5-amino-2-acétophénone

Températures	R_F	Solvants
19 - 20°	0,83	AcOH 15 % - Eau 85 %
21 - 22°	0,89	Butanol-eau
22 - 23°	0,85	Butanol-eau-AcOH

La fragilité du noyau indole, vis-à-vis des agents d'oxydation, rend peu probable la formation d'indol-aldéhyde, supposition étayée par le fait que le tryptophane aboutit, in vivo, aussi bien qu'in vitro, sous l'action de l'ozone ou de H_2O_2 , à la formyl-cynurénine. Il y a lieu de

souligner que le formyl-amino-2-acétohpénone correspond exactement, au point de vue formule, au corps qui se forme par dégradation de l'hétéroauxine soit sous l'action d'enzymes contenues dans des plantes étiolées (52), soit sous l'action de la lumière ultra-violette (25) : fixation d'une molécule d'oxygène et dégagement d'une molécule de gaz carbonique par molécule d'acide indol-acétique détruite. Il était donc légitime de supposer que la réaction modèle traduisait dans une certaine mesure le mécanisme biochimique. En possession de cette hypothèse de travail, il fallait trouver une source enzymatique capable de dégrader l'acide indol-acétique. Nous nous sommes adressés aux tiges de lentilles étiolées.

C) - Oxydation de l'acide indol-acétique par un broyat de tiges de lentilles étiolées.

On fait germer des lentilles à l'obscurité suivant la technique déjà indiquée. Quand elles ont atteint 8 cm. de hauteur, les tiges sont broyées dans un mortier puis le jus est exprimé et filtré dans un linge fin. Une série de tubes à hémolyse dont voici la composition est préparée :

Tubes	Acide indol-acétique à 10^{-3} en cm ³ .	H ₂ O distillée en cm ³ .	Jus de lentilles en cm ³ .	KCN à 10^{-3} en cm ³ .
A	0,4	1,6	2	0
B	0,4	1,6	2	0
C	0,4	1,2	2	0,4

Dans chaque tube, l'acide indol-acétique est à la concentration de 10^{-4} . Le tube A est porté à 100° pendant 1 minute pour détruire toute activité enzymatique, puis les trois tubes sont placés à 27° pendant 5 heures. Après ce laps de temps, chaque tube est porté à 100°, puis les protéines qui précipitent sont éliminées par filtration. L'acide indol-acétique non détruit est dosé dans le filtrat par une technique colorimétrique dérivant de la réaction de Salkowski.

A 1 cm³ du filtrat, on ajoute 0,2 cm³ de perchlorure de fer (à 33° Be dilué au dixième) et 0,5 cm³ d'acide sulfurique pur. On laisse la réaction colorée se développer 5 minutes et on ajoute 5 cm³ d'eau distillée pour être dans de bonnes limites de dosage. L'intensité de la coloration est appréciée à l'électrophotomètre Meunier, en lumière monochromatique verte. La quantité d'acide indol-acétique non détruite et par suite la quantité qui a été oxydée peuvent être calculées en valeur absolue en se reportant à une courbe d'étalonnage : déviations du photomètre en fonction de la concentration en hétéroauxine. Pour tracer cette courbe, on a préparé une série de tube dont la composition est la suivante :

Tubes	1	2	3	4
Acide indol-acétique à 10^{-3} en cm ³ .	0,4	0,3	0,2	0,1
Jus de lentilles en cm ³ .	2	2	2	2
Eau en cm ³ .	1,6	1,7	1,8	1,9
Concentration en acide indol-acétique en γ /cm ³ .	100	75	50	25
Déviation du photomètre.	136 140	110	90	63

L'acide indol-acétique dans chaque tube est dosé selon la technique qui vient d'être décrite :

Déviation du photomètre.

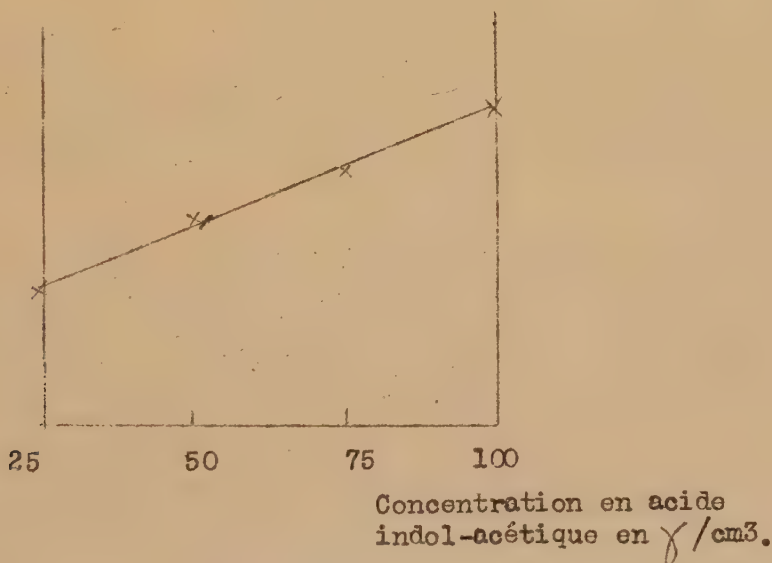


Tableau des résultats

Tubes	Déviation du photomètre	Acide indol-acétique détruit en γ /cm ³
A	136 - 140	0
B	114 - 116	20
C	136 - 140	0

Les tiges de lentilles étioilées renferment donc un enzyme capable de détruire, dans nos conditions expérimentales, 20 γ /cm³ d'acide indol-acétique. L'enzyme est détruit par la chaleur (tube A) et inactivé par KCN à 10^{-4} . Il semble donc y avoir identité entre cet

enzyme et celui détecté dans les épicotyles de pois étiolés. Il est intéressant de souligner que cette similitude de composition biochimique coïncide avec le fait que lentilles et pois appartiennent à la même famille des légumineuses.

D) - Essai d'identification des produits d'oxydation enzymatique de l'acide indol-acétique -

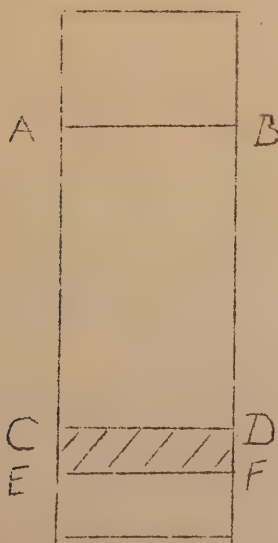
Deux erlenmeyers sont préparés de la façon suivante :

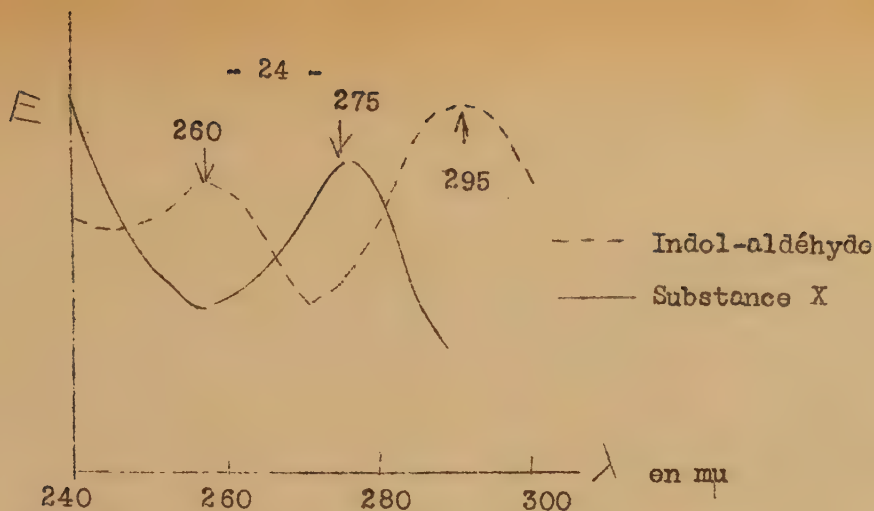
Erlenmeyers	Acide indol-acétique à 10^{-3} en cm ³ .	Jus de lentilles en cm ³ .	eau distillée en cm ³
1	4	20	16
2	0	20	20

Chaque erlenmeyer est bouché à la flamme, au coton, et abandonné à l'étuve pendant 5 heures à 27°. On précipite ensuite les protéines par la chaleur, on filtre sur papier. Le filtrat est ajusté à pH 10 avec de la soude normale puis épuisé à l'éther pendant deux heures, dans un appareil à extraction continue. Les volumes d'éther sont réduits sous vide à 0,1 cm³ environ. Une goutte de chaque solution (5 mm³) est soumise à la chromatographie de partage sur papier en une dimension.

Avec le système butanol-eau, on obtient pour l'extrait n°1 une tache dont le R_F est voisin de 1, colorée en brun violet à 100° par le perchlorure de fer en solution acétique, en jaune-pâle à froid avec le réactif d'Ehrlich, en ocre rosé à chaud avec le même réactif. L'extrait n°2 ne donne pas cette tache, ce qui laisse supposer que la substance qui en est responsable dans le premier cas provient de la dégradation de l'acide indol-acétique.

Apparemment, cette substance inconnue n'est pas de l'o-amino-acétophénone parce que son comportement chromatographique est différent et que ses réactions colorées ne correspondent pas. En vue de déterminer son spectre dans l'ultra-violet, nous avons réalisé un chromatogramme de la façon suivante. Sur la ligne AB tracée sur une bande de papier Whatmann, large de 7 cm, sont déposées côte à côte une dizaine de gouttes dont le volume total est de l'ordre de 50 mm³. La substance entraînée par le solvant ne forme plus une tache mais une bande CDEF qu'on ne révèle pas avec un réactif mais qu'on localise d'après son R_F. La bande CDEF est découpée puis plongée dans 4 cm³ d'alcool bouillant. Cette solution montre un maximum d'absorption dans l'ultra-violet à 275 mμ. Il ne s'agit pas d'indol-aldéhyde dont le spectre est très différent et qui est d'ailleurs soluble en milieu alcalin; mais on a peut-être affaire à un dérivé à un noyau indole car beaucoup de dérivés indoliques présentent un maximum d'absorption dans l'ultra-violet vers 280 mμ.

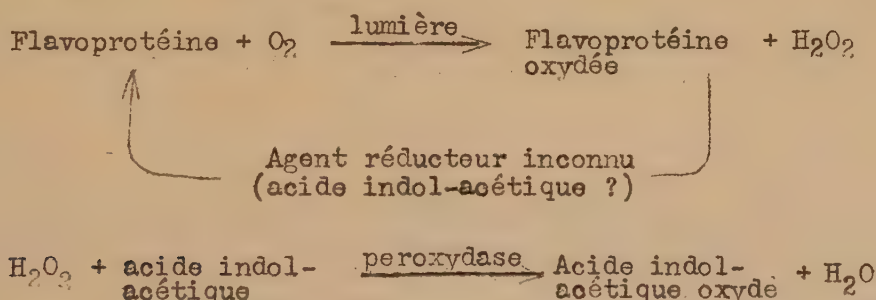




E) - Identification des produits provenant de la Photo-
oxydation de l'acide indol-acétique -

Si la dégradation enzymatique de l'hétéroauxine, mise en oeuvre dans nos expériences, ne conduit pas à l'o-amino-acétophénone, comme c'est le cas *in vitro*, sous l'action de l'eau oxygénée additionnée de molybdate d'ammonium, on ne peut pas conclure qu'un tel produit de dégradation ne se forme pas dans les plantes, car il n'est peut être pas le stade ultime de l'oxydation et, d'autre part, le système enzymatique contenu dans les tiges de lentilles étiolées n'est pas forcément le seul à intervenir.

Dans le premier chapitre, nous avons signalé l'existence d'autres enzymes capables de dégrader l'acide indol-acétique par oxydation, en faisant intervenir l'énergie lumineuse. Galston (25) a suggéré une relation entre l'oxydation enzymatique de l'hétéroauxine et sa photoinactivation. Ses résultats expérimentaux sont résumés dans le schéma suivant :



Toutefois, il n'est pas encore établi avec certitude que l'acide indol-acétique soit oxydé directement aux dépens d'une flavoprotéine ou par l'intermédiaire d'une peroxydase et on ignore la nature du produit ou des produits de dégradation. On sait seulement et nous l'avons déjà mentionné plus haut, que pour une molécule d'hétéroauxine oxydée, il y a dégagement d'une molécule de gaz carbonique et consommation d'une molécule d'oxygène. Nous nous sommes alors demandés si ce bilan ne correspondrait pas à la formation de formyl-amino-acétophénone. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons irradié une solution d'acide indol-acétique par la lumière émise par une lampe à vapeurs de mercure, et nous avons exxayé, après extraction, de caractériser les produits formés par chromatographie de partage sur papier.

1/ - Irradiation -

20 cm³ d'une solution d'indol-acétate de sodium à 10⁻⁴ sont introduits dans un bécher de 7 cm de diamètre et de 9 cm de hauteur et sont abandonnés sous une lampe à vapeurs de mercure située à 20 cm au-dessus de la surface du liquide. Toutes les 10 minutes, on prélève un cm³ de la solution auquel on ajoute 0,5 cm³ de perchlore de fer (solution diluée) et 0,5 cm³ de SO₄H₂ concentré. Après 60 minutes d'irradiation, aucune réaction colorée ne se développe plus; tout l'acide indol-acétique est dégradé. Mais les substances formées qu'on extrait alors paraissent très complexes; les produits intermédiaires, résultant de la photo-oxydation, ont été sans doute dégradés à leur tour. Pour ces raisons, nous avons limité l'irradiation à 20 minutes.

Pour obtenir une quantité de substance assez importante pour être caractérisée par chromatographie de partage sur papier, il faut irradier séparément 4 fois 20 cm³. Les solutions soumises à l'action de la lumière sont réunies (en tout 80 cm³), alcalinisées avec 4 cm³ de soude normale et épuisées à l'éther pendant 2 heures, dans un appareil d'extraction continue. L'éther est évaporée. Le résidu, additionné de 0,5 cm³ d'acide sulfurique normal, est chauffé 30 minutes au bain-marie bouillant. La solution est alcalinisée puis épuisée à l'éther. La solution étherée est réduite sous vide à environ 0,2 cm³ et soumise à la chromatographie de partage sur papier.

2/ - Identification des produits formés -

Nous avons mis en évidence une tache ayant le même comportement chromatographique que l'o-amino-acétophénone : même fluorescence - même coloration avec le réactif d'Ehrlich - mêmes R_F dans les différents systèmes de solvants. Sur le chromatogramme sont visibles d'autres taches fluorescentes, mal limitées, de R_F voisins de 0, que nous n'avons pas encore identifiées.

F) - Discussion -

Notre prétention n'a pas été de résoudre intégralement le problème de la dégradation de l'hétéroauxine *in vivo* mais seulement d'apporter dans l'étude de ce phénomène une méthode d'étude simple. Les résultats acquis paraissent encourageants. Afin d'avoir une idée de la nature des produits qui peuvent se former par oxydation enzymatique de l'acide indol-acétique, nous avons entrepris l'étude de réactions modèles : grâce à la chromatographie de partage sur papier, nous avons pu mettre en évidence, parmi des produits de dégradation, l'o-amino-acétophénone. Cette substance se forme aussi bien sous l'action de l'eau oxygénée en présence d'un catalyseur que sous l'action de la lumière, mais nous n'avons pu montrer qu'elle apparaît quand l'acide indol-acétique est dégradé par un enzyme contenu dans les tiges de lentilles étiolées. Dans ce cas particulier, nous avons réussi à séparer sur le chromatogramme une substance qui, d'après le spectre que nous avons pu établir, et ses réactions colorées, posséderait encore un noyau indole; il ne s'agit pourtant pas d'indol-aldéhyde dont le spectre est très différent.

Les formules brutes de l'indol-aldéhyde ou de la formyl-amino-acétophénone correspondent au bilan : 1 CO₂ dégagé et 1 O₂

consommé par molécule d'hétéroauxine oxydée mais elles n'impliquent pas comme conséquence que l'un ou l'autre de ces produits de dégradation se forme à l'exclusion de tout autre; in vitro, en particulier, il apparaît d'autres produits de nature encore indéterminée. In vivo, il existe bien d'autres systèmes enzymatiques que celui que nous avons étudié et dont le mécanisme est peut-être très différent. Le problème de l'oxydation de l'acide indol-acétique dans les plantes demeure encore entier; nous pensons que la chromatographie de partage sur papier apportera la solution dans un avenir très proche.

-- 3° - CHAPITRE --

=====

SIGNIFICATION PHYSIOLOGIQUE DE L'ACIDE INDOL-ACÉTIQUE DANS LES
TUBERCULES DE POMMES DE TERRE

A) - Introduction -

Nous avons montré que le jus de pomme de terre hydrolysé par la pancréatine contient de l'acide indol-acétique (67). Mais, il paraît utile de souligner un fait que Moevus a passé sous silence. C'est l'action possible des enzymes de la pomme de terre sur la pancréatine. Celle-ci exerce un effet presque nul sur le test de la racine de cresson ; dans ce cas, on conclut aisément qu'elle renferme peu ou pas d'hétéroauxine. Quand le jus de pomme de terre est soumis à l'action de la pancréatine, il apparaît une forte activité phytohormonale. En toute rigueur, il serait impossible d'affirmer que l'acide indol-acétique, identifié par nous, provient uniquement du jus hydrolysé ou partiellement de la dégradation de la pancréatine par le jus de pomme de terre, si deux faits ne venaient confirmer la première thèse :

- 1) - le jus de pomme de terre contient, comme l'a montré Moevus (67), un enzyme capable d'inactiver, sans la détruire, l'hétéroauxine qui entre en liaison peptidique avec une protéine et qui peut être libérée à nouveau par la pancréatine.
- 2) - aucune trace d'acide indol-acétique n'est décelée quand on hydrolyse une protéine banale, l'édestine du pois par exemple, par la pancréatine, ce qui montre que l'acide indol-acétique n'apparaît pas après un simple séjour de la pancréatine en présence d'une protéine.

Plusieurs constatations soulignent l'importance que doit jouer l'hétéroauxine dans la croissance des pommes de terre :

- elle peut être inactivée par un enzyme contenu dans les tubercules.
- elle existe sous forme liée dans les tubercules.
- selon Hemberg (34), elle stimule le développement des bourgeons pour des concentrations allant de 0,01 à 1 mg par litre.
- enfin, nous avons remarqué fortuitement une variation dans l'aptitude du jus de pomme de terre à inactiver l'acide indol-acétique, selon qu'il s'agit de pommes de terre vieilles ou nouvelles.

B) - Expérimentation -

Des pommes de terre nouvelles de différentes variétés (récoltées en septembre) ou vieilles (avril) sont épluchées, lavées à l'alcool, râpées, pressées dans un linge. On laisse décanter le jus à l'obscurité pendant 30 minutes pour éliminer une grande partie de l'amidon, on prépare une série de tube à essais contenant chacun :

- acide indol-acétique à 10^{-3} 0,5 cm³
- jus de pommes de terre vieilles ou nouvelles - 9,5 cm³

Les tubes, après addition de quelques gouttes de toluène et obturation aseptique au coton cardé, sont abandonnés 24 heures à 27°. Après ce laps de temps, on dose l'acide indol-acétique non combiné à l'aide de la technique colorimétrique déjà décrite dans le précédent chapitre.

Le contenu de chaque tube est porté 5 minutes au bain-marie à 100° pour précipiter les protéines, puis filtré sur papier à chaud. Après refroidissement, à 2 cm³ du filtrat, on ajoute successivement :

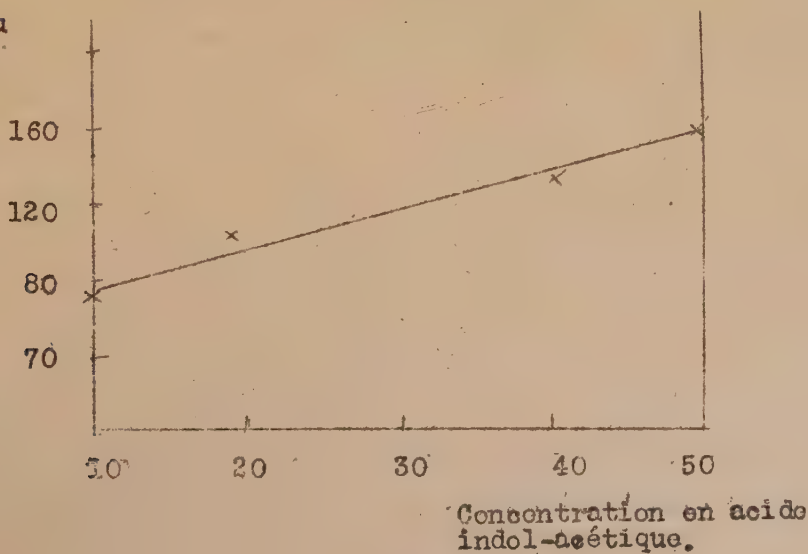
- 0,1 cm³ de perchlorure de fer (à 33° Bé dilué au dixième)
- 0,5 cm³ d'acide sulfurique pur,
- puis après 3 minutes,
- 4 cm³ d'eau distillée.

On attend encore 3 minutes et on mesure l'intensité de la coloration à l'électrophotomètre Heunier. On peut ainsi évaluer la quantité d'acide indol-acétique demeurant dans le milieu et par suite la quantité disparue, en se reportant à une courbe d'étalonnage.

Pour établir cette courbe, on introduit dans des tubes contenant 9,5 cm³ de jus de pommes de terre des quantités d'acide indol-acétique telles que les concentrations soient : 10, 20, 40, 50 γ /cm³. En suivant la technique indiquée plus haut, on trace la courbe : déviations du photomètre en fonction de la concentration.

concentration en acide					
indol-acétique en γ /cm ³	50	40	20	10	
divisions du photomètre	154	129	100	75	

Divisions du photomètre.



C) - Résultats -

Les résultats consignés dans le tableau suivant soulignent la différence de comportement entre les pommes de terres nouvelles et les pommes de terres vieilles. Contrairement aux premières, les secondes s'avèrent incapables d'inactiver l'hétéroauxine.

		! pommes de terre !	! pommes de terre !
		! nouvelles !	! vieilles !
! Dévia- : Tubes bouillis	! :	! :	! :
! tions : au temps 0	! :	! 154 !	! 155 !
! du : :	! :	! :	! :
! photo- : Tubes bouillis	! :	! :	! :
! mètre : après 24 heures	! :	! 100 !	! 153 !
! :	! :	! :	! :
! :	! :	! :	! :
! :	! Acide indol-acétique	! 30 !	! 0 !
! :	! inactivé en γ /cm ³	! :	! :

D) - Discussion -

Ce fait que les pommes de terre vieilles n'inactivent plus l'acide indol-acétique, contrairement aux pommes de terre nouvelles, s'accorde très bien avec les constatations de Hemberg (35) et Pavillard (78). Selon le premier auteur, les tubercules de pommes de terre récoltées en automne sont incapables de germer pendant plusieurs semaines, parce que la couche périodermique renferme très peu d'aucine libre. D'après le deuxième auteur, la teneur en aucine augmente au moment de la germination. De l'ensemble de ces expériences il semble logique d'admettre que l'acide indol-acétique synthétisé par la pomme de terre doit être progressivement mis en réserve dans le tubercule, sous forme inactive, en se combinant à une protéine et qu'une fois en équilibre atteint (ce qui est le cas des pommes de terre vieilles) il ne peut plus être inactivé. Il faut attendre le moment de la germination pour qu'il soit naturellement libéré par une enzyme protéolytique : sous forme libre, il manifesterait alors son activité en stimulant le développement des bourgeons. Pour apporter un argument supplémentaire à cette thèse, il aurait été souhaitable de doser la teneur en hétéroauxine combinée à différents moments de l'année, mais si la technique de chromatographie de partage sur papier se prête bien à l'identification de ce facteur de croissance à l'aide d'une réaction colorée, dans l'état actuel de nos recherches, elle ne s'est pas montrée apte à un dosage assez précis.

- DEUXIEME PARTIE -
=====

ANALOGIE STRUCTURALE ET ACTIVITE PHYTOHORMONALE

-- 1° - CHAPITRE --

=====

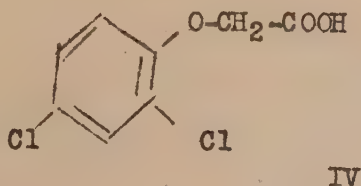
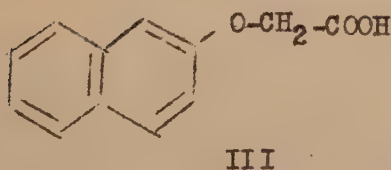
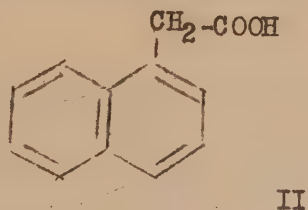
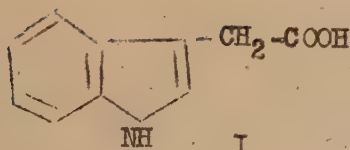
ANALOGIE STRUCTURALE ET ACTIVITE PHYSIOLOGIQUE

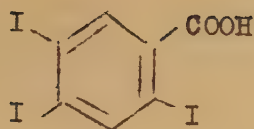
Dès qu'on eut découvert que l'acide indol-acétique est une substance de croissance naturelle, plusieurs groupes de chimistes se sont efforcés de préparer des hétéroauxines de synthèse. Il leur fallait, au préalable, être munis de tests biologiques spécifiques mais dont la mise en oeuvre fut moins délicate que celle du coléoptile d'avoine. Nombreux sont les tests qui ont été mis au point. Aussi, nous ne les citerons pas tous, d'autant que chaque biochimiste utilise préférentiellement un ou plusieurs tests, suivant les possibilités de son laboratoire. Il existe cependant une règle absolue : quand on étudie les propriétés biologiques de substances synthétiques nouvelles, on a intérêt à les soumettre à plusieurs tests qui se traduisent par des phénomènes morphologiques variables, selon les corps envisagés. Deux substances également actives sur un même test peuvent avoir un comportement tout à fait différent vis à vis d'un autre test. Nous aurons l'occasion, plus loin, d'en donner des exemples.

I - Principaux groupes de substances à caractère phytohormonal -

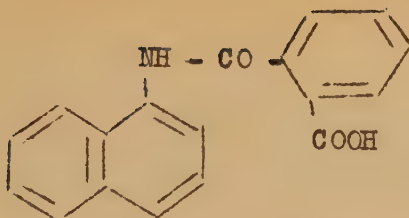
Chaque année sont découvertes de nouvelles substances qui possèdent en partie ou en totalité les caractères biologiques de l'hétéroauxine (88). Actuellement, elles peuvent être rangées dans plusieurs groupes dont voici les principaux :

- 1 - Acide indol-acétique (I) et homologues supérieurs
- 2 - Acides naphthaléniques dérivant du prototype : l'acide α -naphthyl-acétique (II)
- 3 - Acides aryloxyacétiques. Exemples : acide β -naphtoxy-acétique (III) - acide dichloro-2,4-phénoxyacétique (IV)
- 4 - Acides benzoïques substitués, type acide 2,4,5-triodo-benzoïque (V)
- 5 - Acides arylphthalamiques, type acide α -naphthyl-phthalamique (VI)





V



VI

Bien que de structure chimique différente, ces cinq classes de composés présentent quelques caractères communs dont la présence est absolument indispensable au maintien de l'activité :

- Tous les corps actifs ont une fonction acide $-COOH$, à caractère hydrophile (ou tout autre groupement susceptible de se transformer en $-COOH$).
- Les molécules comportent un ou plusieurs cycles aromatiques de caractère nettement lipophile.
- La chaîne latérale portant la fonction $-COOH$ doit occuper une disposition spatiale particulière : elle doit être dans un plan perpendiculaire au plan lipophile (98) - (46).

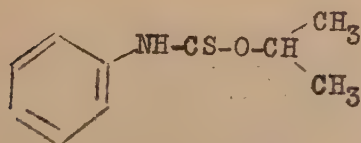
II - Analogie structurale -

La découverte de nouvelles molécules jouant un rôle biologique quelconque est parfois le fruit du hasard. Mais il existe des règles qui, bien que leur ensemble n'offre par un caractère assez absolu pour être érigées en lois, permettent de synthétiser des molécules ressemblant chimiquement à d'autres molécules déjà connues.

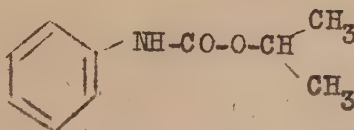
Le biochimiste est le plus souvent guidé par deux outils analytiques qui ont permis à la notion d'analogie structurale de pénétrer dans presque tous les domaines de la pharmacodynamie : ce sont les théories de l'isostérie et du cycle potentiel. Grâce à elles, il est possible de synthétiser à l'image de métabolites essentiels des substances capables de remplir le même rôle ou au contraire susceptibles d'en inhiber le fonctionnement. Beaucoup d'idées ont été développées à ce sujet (59) et nous nous contenterons, par conséquent, d'en rappeler les principales lignes.

A) - Isostérie -

L'expérience a montré qu'on peut très souvent remplacer dans une molécule organique un atome d'oxygène par un atome de soufre sur une chaîne ou dans un cycle, sans modifier les vertus physiologiques du corps ainsi transformé. Par exemple, le phényl-thiocarbamate d'isopropyle (VII) possède un pouvoir antimitotique aussi intense que le phényl-carbamate d'isopropyle (VIII) (60).



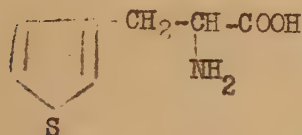
VII



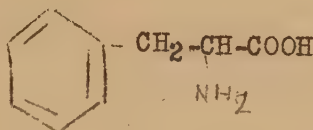
VIII

La cause d'une telle analogie d'action repose sur la ressemblance des molécules qui doit être suffisamment étroite pour "tromper" les mécanismes biochimiques des mitoses. Cette ressemblance réside dans le fait que la configuration électronique périphérique est la même pour l'oxygène que pour le soufre (chaque atome renferme en effet une paire d'électrons [libre]).

D'une manière générale, deux composés dont la structure électronique est identique sont dits "isostères". Il est possible de transformer un composé en son isostère en remplaçant dans sa molécule un groupement -NH par un -CH=CH- ou encore par un atome d'oxygène ou de soufre. Mais, s'il arrive souvent qu'en passant d'une substance à une autre substance isostère, les propriétés physiologiques de la première soient conservées, il arrive aussi que cette simple modification donne naissance à un corps ayant une activité opposée. Par exemple, la thiényl-alanine (IX) est antagoniste de la phényl-alanine (X) vis à vis de *Bacterium Coli* (68).



IX

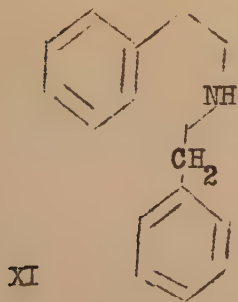


X

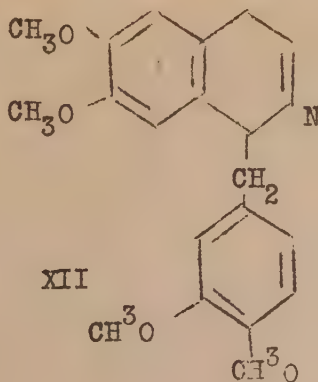
B) - Cycles potentiels -

Des substances synthétiques, préparées à l'image d'un métabolite essentiel, peuvent être actives à condition de présenter une configuration spatiale analogue à celle de ce métabolite. Pour réaliser cette analogie, quand il s'agit de molécules cycliques, il n'est pas nécessaire que tous les chaînons du cycle soient reliés entre eux par une liaison de covalence. Le cycle peut être coupé à un endroit et il est même possible d'en supprimer un chaînon, sans que pour cela la disposition spatiale de l'ensemble de la molécule soit modifiée.

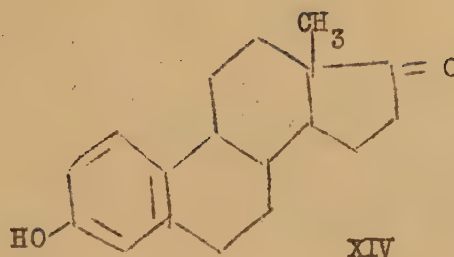
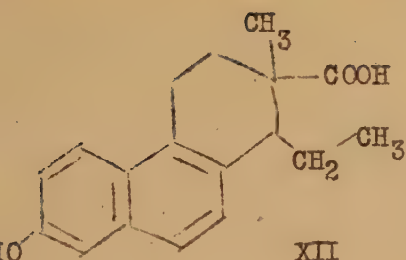
L'être vivant n'est souvent pas capable de reconnaître un cycle potentiel, non fermé, d'un cycle réel; ainsi, la diphenyl-éthylamine (XI) est spasmolytique comme la papavérine (XII), l'acide déhydrodoisynolique (XIII) est vingt fois plus actif au point de vue oestrogène que la folliculine (XIV). De nombreux autres exemples confirment ce point de vue (61).



XI



XII



III - Applications des notions d'analogie structurale aux recherches personnelles.

Dans le domaine des phytohormones, les relations structure-activité ont également fait l'objet de nombreux travaux. Il arrive parfois que des corps, extrêmement différents quant à la forme de leurs molécules, manifestent des propriétés identiques : l'éthylène, dans certains cas, détermine la rhizogénèse, comme l'acide α -naphthyl-acétique (19). Mais au sein d'une série homogène, en conservant la structure fondamentale du prototype et en lui apportant une légère modification, le caractère phytohormonal peut être maintenu ou bien supprimé en partie ou en totalité. Ainsi, l'acide α -naphthyl-vinyl acétique possède plusieurs propriétés négatives des hétéroauxines : inhibition de la germination et de la croissance à des concentrations supérieures à 10^{-5} . Il exalte aussi les cultures de tissus *in vitro* (12), mais ne déclenche pas la rhizogénèse sur des tiges de lentilles contrairement à l'acide α -naphthyl-acétique (62).

L'analogie structurale, certes, permet de reproduire, en partant du prototype, des molécules douées d'une activité déterminée, mais souvent, une légère modification structurale, bien que l'action physiologique fondamentale soit conservée ou même exaltée, peut introduire un caractère particulier, tel la toxicité. Ce caractère doit être évité dans les médicaments mais il peut être très important de concilier le caractère phytohormonal à la toxicité, quand on désire obtenir des désherbants sélectifs. Dans ce qui va suivre, nous essaierons de chercher si l'action des substances connues ou nouvelles préparées généralement d'après des idées d'analogie structurale, ne s'explique pas partiellement par leur interférence dans le métabolisme de l'hétéroauxine. Pour examiner le comportement de ces substances, nous les avons soumises à différents tests que nous allons décrire maintenant.

IV - Tests d'activité phytohormonale -

Notre méthode d'expérimentation biologique consiste à faire agir des substances synthétisées sur des tests d'inhibition et des tests d'activation.

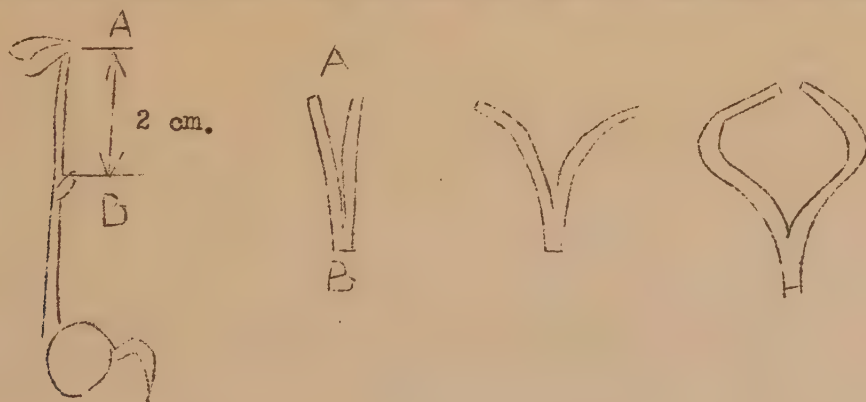
Plusieurs faits sont bien établis : les substances à caractère phytohormonal inhibent le phototropisme des dicotylédones, déterminent leur croissance anarchique et inhibent la germination des graines. Nos essais ont porté sur la lentille blonde qui a l'avantage de pousser rapidement et de présenter une sensibilité particulière.

- Le test de l'inhibition du phototropisme et de la croissance anarchique constitue une méthode rapide de dégrossissage (63). Des lentilles blondes sont imbibées pendant 24 heures dans l'eau du robinet puis placées dans des boîtes de Pétri sur un lit de coton hydrophile imprégné d'eau. Quand elles ont atteint une hauteur de 4 à 5 cm, elles s'inclinent vers la lumière; si on retourne les boîtes de 180°, elles reprennent leur position primitive après un délai variant, suivant les conditions dans lesquelles elles ont poussé (température - degré hydrométrique, etc ...) de 45 minutes à 3 heures. Si on vaporise sur les tigelles, par exemple 5 cm³ d'une solution à 10⁻³ d'acide indol-acétique, le phototropisme est aboli et, après 24 à 48 heures, les tiges se tordent dans toutes les directions en même temps qu'elles s'épaississent.

- Des graines de lentilles imbibées pendant 24 heures dans des solutions de substances phytohormonales puis placées dans des boîtes de Pétri, présentent, suivant la concentration des solutions, ou bien une inhibition totale ou bien un retard de la germination par rapport à des lots témoins traités uniquement par l'eau. On établit ainsi la limite de dilution active.

- L'acide indol-acétique et beaucoup d'hétéroauxines de synthèse sont doués de propriétés rhizogènes qu'il est facile de mettre en évidence à l'aide du test suivant. En vaporisant sur des lots de lentilles (5 g par boîte de Pétri) dont les tigelles ont atteint une hauteur de 2 cm, 5 cm³ d'une solution d'hétéroauxine à 10⁻⁸, on constate d'abord un blocage du bourgeon terminal suivi d'une croissance isodiamétrique considérable des tiges. Celles-ci, au bout de 10 jours, dans des conditions hygrométriques convenables, donnent naissance, sur une grande partie de leur hauteur, à des racines dont la longueur peut atteindre 2 cm. (62).

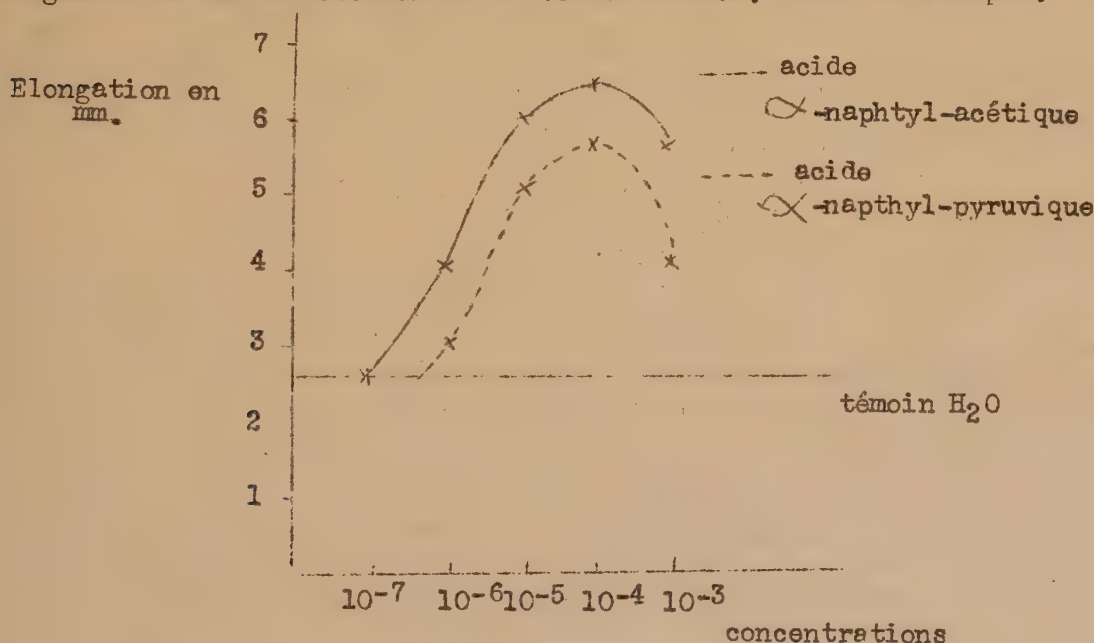
Le pea-test de Went (101), devenu si classique qu'il n'apparaît pas nécessaire de le décrire dans le détail, nous a permis de déterminer rapidement si les corps que nous avions préparés sont capables de produire la prolifération et l'élongation cellulaire.



Il consiste, comme l'indiquent les schémas, à prélever sur des tiges de pois des segments AB de 2 cm, entre le bourgeon terminal et le premier entre-nœud, à fonder ces segments à partir du haut et à les plonger dans les solutions des corps à étudier. En cas d'activité, les deux extrémités normalement écartées se rapprochent en forme de cœur, par suite d'une élongation dissymétrique. Suivant les expérimentateurs, la détermination de la dilution limite active ou la mesure de l'angle de courbure permet d'évaluer l'intensité de l'action phytohormonale. Toutefois, ce test se prêt mal à une détermination quantitative de l'activité, car il est difficile d'obtenir

un angle de courbure constant pour une concentration déterminée et le nombre de réponses positives, en cas d'activité, est souvent variable.

- Afin de tracer une courbe d'activité, nous avons mis au point un test simple : élongation rectiligne de segments de tiges de lentilles privées de leur bourgeon terminal et plongées dans des solutions à différentes concentrations (72). On fait pousser des lentilles sur boîtes de Pétri. Quand les tiges ont atteint une hauteur de 8 cm, on les sectionne à la base, on les décapite et on coupe des segments AB, longs de 2 cm. Préalablement, on a préparé des béciers contenant les uns, pour les témoins, 20 cm³ d'eau du robinet, les autres, pour les essais d'activité, 20 cm³ de solutions d'hétéro-auxines à différentes concentrations. Dans chaque bécier, sont plongés 10 segments de tiges, puis les récipients sont placés pendant 5 à 10 heures à l'obscurité, à une température de 20°. L'ablation du bourgeon terminal, source naturelle de substances de croissance, supprime à peu près toute élongation des segments placés dans l'eau ordinaire. Cependant, les segments qui baignent dans les solutions de substances douées d'une activité présentent une croissance rapide dont l'intensité est fonction de la concentration. Pour évaluer les élongations, on mesure chaque segment et on fait la moyenne des élongations pour chaque concentration. Dans les différentes expériences, les écarts maxima d'allongement, pour un lot de segments placés à une concentration déterminée, sont inférieurs au millimètre. L'intensité de l'action phytohormonale se traduit sur une courbe : élongations des segments en mm en fonction de la concentration. Voici un exemple.



- Mentionnons le test de l'épinastie, surtout utilisé par les auteurs américains. Zimmermann (108) a montré l'existence, à la partie supérieure du pétiole de la feuille de tomate, d'une zone de cellules sensibles dont l'élongation produit ce qu'on appelle le phénomène de l'épinastie et qui consiste en une augmentation de l'angle normalement aigu entre le pétiole et la tige. Ce phénomène peut également servir à doser les substances capables de provoquer l'élongation cellulaire.



Plante normale



Epinastie

- Enfin, la culture des tissus végétaux, mise au point par Gautheret (27), achève de confirmer les résultats primaires donnés par l'ensemble des tests précédents et fournit des renseignements précieux sur l'action histogène de composés nouveaux. Elle ne peut être mise en oeuvre que dans des laboratoires spécialisés. C'est une méthode pondérale. Des fragments de tissus (parenchymes ou méristèmes) prélevés sur des topinambours, des carottes, des scorzonères sont placés aseptiquement dans des tubes, sur de la gélose, contenant sucre et sels minéraux. Certains tissus (carotte - crown gall - scorzonère, etc ...) sont capables de proliférer en l'absence de substance de division dans le milieu nutritif. D'autres sont incapables de proliférer spontanément (topinambour). Il faut alors ajouter au milieu nutritif soit de l'acide indol-acétique, soit un autre facteur chimique de synthèse. L'augmentation de poids des fragments, résultat de la prolifération cellulaire, est fonction de la concentration du facteur ajouté; elle peut se traduire graphiquement et permettre une comparaison aisée entre les activités de différentes substances.

-- 2°) CHAPITRE --

=====

ANALOGUES STRUCTURAUX DE L'ACIDE INDOL-ACETIQUE

I - Acide α -naphtyl-acétique -

Dans le domaine des phytohormones, les acides indol-acétique et α -naphtyl-acétique constituent une belle illustration de la théorie de l'isostérie : le groupement $-NH$ du noyau indole est simplement remplacé par le groupement isostère $-CH=CH-$. Chaque molécule comporte également 5 paires d'électrons π . Cette analogie structurale est doublée d'une analogie spectrale : ces corps présentent dans l'ultra-violet un maximum d'absorption à 280 m μ .

La ressemblance des molécules s'accompagne de propriétés biologiques identiques. Ces deux acides agissent de la même façon sur les principaux tests et leurs activités sont sensiblement du même ordre. Ils ont un pouvoir rhizogène élevé, ils déterminent l'élongation et la multiplication cellulaire.

A) - Synergie des acides α -naphtyl-acétique et nicotinique vis-à-vis de la rhizogénèse -

Galston (26) a montré récemment que les acides indol-acétique et nicotinique agissent en synergie sur la rhizogénèse des tiges de pois. Les deux acides doivent s'intégrer dans un chaînon métabolique dont il reste à découvrir la nature et la signification. Il paraissait intéressant de savoir si l'acide α -naphtyl-acétique est capable de remplacer l'acide indol-acétique dans ce mécanisme intime. L'expérience a prouvé que les acides α -naphtyl-acétique et nicotinique, agissant simultanément, ajoutent et même exaltent leur pouvoir rhizogène vis-à-vis des tiges de lentilles.

1) - Expérimentation -

On fait germer des lentilles dans les conditions déjà indiquées. Quand les tiges ont atteint une hauteur de 6 cm, elles sont décapitées et sectionnées juste au-dessus des cotylédons. Elles sont groupées par faisceau de 10 puis plongées pendant 24 heures, la pointe en bas, dans des tubes à hémolyse contenant chacun :

N° des tubes	Acide α -naphtyl-acétique à 10^{-4} en cm 3 .	Acide nicotinique à 10^{-4} en cm 3 .	Eau en cm 3 .	Solution de saccharose à 3 % en cm 3 .
1	0,1	0	0,3	0,6
2	0,2	0	0,2	0,6
3	0	0,1	0,3	0,6
4	0	0,2	0,2	0,6
5	0,2	0,2	0	0,6

Après 24 heures, les tiges sont lavées à l'eau puis placées dans une position normale dans des tubes à hémolyse contenant chacun 1 cm³ d'une solution de saccharose à 3 %. Cette solution est renouvelée chaque jour. Les tubes sont maintenus à une température de 25° ($\pm$ 3°). Après 8 à 10 jours, des racines apparaissent à la base des tiges. Pour chaque tube, on fait la somme des racines apparues.

2) - Résultats -

N° des tubes	1	2	3	4	5
-----	-----	-----	-----	-----	-----
Nombre de racines	8	9	14	13	27

Suivant les expériences, le nombre de racines induites dans chaque tube présente des variations, mais dans chaque expérience le nombre de racines induites dans le tube n° 5 est égal au moins à la somme des racines induites séparément par les acides α -naphtyl-acétique et nicotinique, dans les tubes n° 2 et 4. Dans les cas les plus favorables, comme celui mentionné dans le tableau, l'action réciproque des deux acides est exaltée; la synergie se manifeste non seulement par le nombre des racines induites, mais encore par leur longueur qui atteint 5 à 6 mm.

B) - Différence de comportement biochimique des acides indol-acétique et α -naphtyl-acétique -

Malgré de nombreuses analogies dans leur action morphogénétique, les acides indol-acétique et α -naphtyl-acétique peuvent se comporter différemment, en particulier vis-à-vis d'un enzyme contenu dans le jus de pomme de terre. Comme nous l'avons mentionné, Moëvus (67) a montré que l'acide indol-acétique est inactivé, sans être détruit, par un enzyme contenu dans un jus de pomme de terre. on pouvait se demander si l'acide α -naphtyl-acétique, grâce à son analogie structurale, se comporterait de la même manière. Nous avons alors reproduit les expériences de Moëvus, conformément à la technique suivante :

1) - Expérimentation -

On utilise 5 erlenmeyers de 50 cm³. Dans chacun, on introduit :

N° des Erlens	Jus de pommes de terre en cm ³ .	Acide indol-acétique à 10 ⁻³ en cm ³	Acide naphtyl-acétique à 10 ⁻³ en cm ³ .	Eau en cm ³ .
1	19,6	0	0	0,4
2	19,6	0,2	0	0,2
3	19,6	0,2	0	0,2
4	19,6	0	0,2	0,2
5	19,6	0	0,2	0,2

Les Erlens 2 et 4 sont chauffés à 100° afin d'empêcher l'action diastasique. Les cinq erlens sont placés à l'étuve à 27° pendant 24 heures. Après ce laps de temps, les erlens 1, 3, 5 sont chauffés à 100°. Le précipité apparu est éliminé par filtration sur papier. Pour doser les acides indol-acétique et -naphtyl-acétique restant dans chaque solution, on introduit dans chacune 25 lentilles blondes. Celles-ci, après 24 heures d'imbibition, sont placées sur un lit de coton hydrophyle imprégné d'eau.

2) - Résultats -

N° des Erlens.	Ebullition		Action sur la germination -
	Temps 0	Après 24 H.	
1		+	
2	+		inhibition
3		+	
4	+		inhibition
5		+	inhibition

On constate que les lentilles plongées dans les erlens 2,4 et 5 subissent un fort retard de la germination et de la croissance.

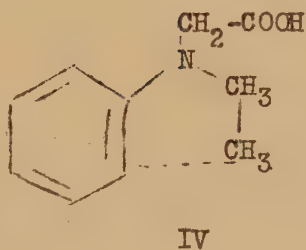
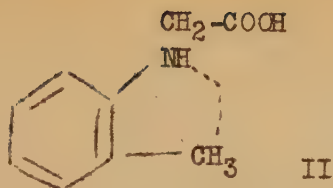
On sait qu'à partir d'une certaine concentration les substances à propriétés phytohormonales inhibent la germination. Le retard constaté ne peut être attribué qu'à la présence à l'état libre de l'acide indol-acétique dans l'erlen n°2, de l'acide -naphtyl-acétique dans les erlens n°4 et 5.

Il existe donc une différence de comportement biochimique entre les deux acides : l'un est inactivé par le jus de pommes de terre, l'autre ne l'est pas. Il est vraisemblable que, malgré leur analogie structurale, l'enzyme qui inactive l'acide indol-acétique est capable de discerner le groupement $-CH=CH-$ du groupement $-NH_2$, lequel paraît plus apte à produire des associations moléculaires.

II - Le N-méthyl-N-phényl-glycocolle -

Nous avons vu que les organismes ne sont souvent pas capables de distinguer un cycle réel d'un cycle potentiel, non fermé ou simplement amorcé. Mais on n'avait pas encore montré que des molécules synthétisées à l'image des acides -naphtyl-acétique ou indol-acétique mais dont un des cycles ne serait pas complet conserveraient un caractère phytohormonal. Pour vérifier cette éventualité nous avons été conduits à préparer les acides suivants : tous décrits dans la littérature :

- phényl-glycocolle (I) - (3)
- Acide o-toluidino-acétique (II) - (37)
- N-méthyl-N-phényl-glycocolle (III) - (99)
- N-éthyl-N-phényl-glycocolle (IV) - (39)



Le corps IV possède la même configuration que l'acide indol-acétique : il existe seulement un changement de place de l'azote et une rupture du cycle conservé à l'état potentiel. Par contre, dans les corps II et III, le cycle potentiel n'est qu'amorcé : un chaînon de l'édifice a été éliminé.

Voici, résumés dans un tableau, les résultats expérimentaux qui soulignent le caractère phytohormonal, faible mais certain, des N-méthyl- et N-éthyl-N-phényl-glycocolles et l'inactivité des deux autres acides :

Dilutions limites				
Corps	Inhibition du phototropisme	Inhibition de la germination	Rhizogénèse	Pea-test
I	0	5×10^{-3}	0	0
II	0	5×10^{-3}	0	0
III	10^{-4}	10^{-4}	10^{-2}	5×10^{-5}
IV	10^{-4}	10^{-4}	non essayé	10^{-4}

Le diagramme I traduit les activités comparées du N-méthyl-N-phényl-glycocolle et de l'acide α -naphthyl-acétique sur notre test : élongation des segments de tiges de lentilles. Le premier corps est environ 100 fois moins actif que le second (77).

Les diagramme II et III montrent les activités respectives du N-méthyl-N-phényl-glycocolle et de l'acide indol-acétique sur différentes cultures de tissus (13).

ongations en mm

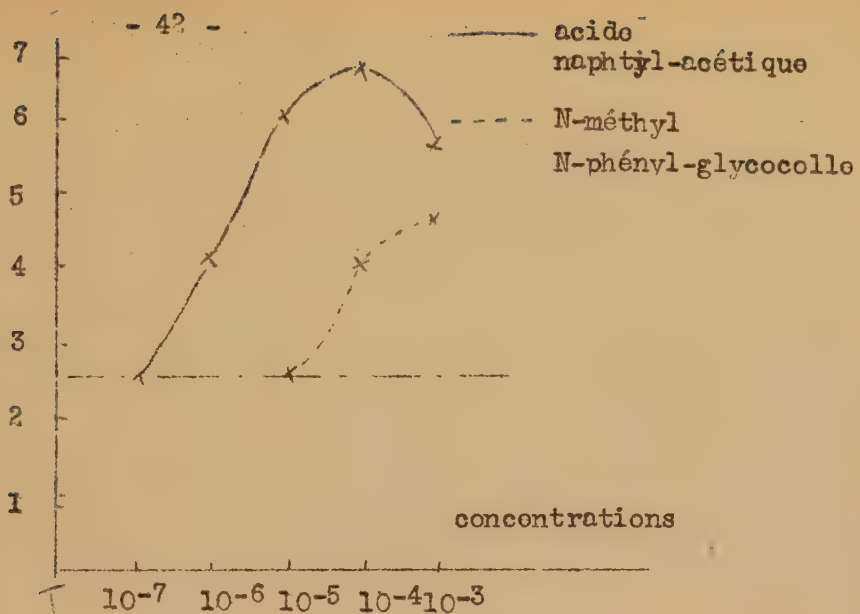


DIAGRAMME I

Croissance en mg

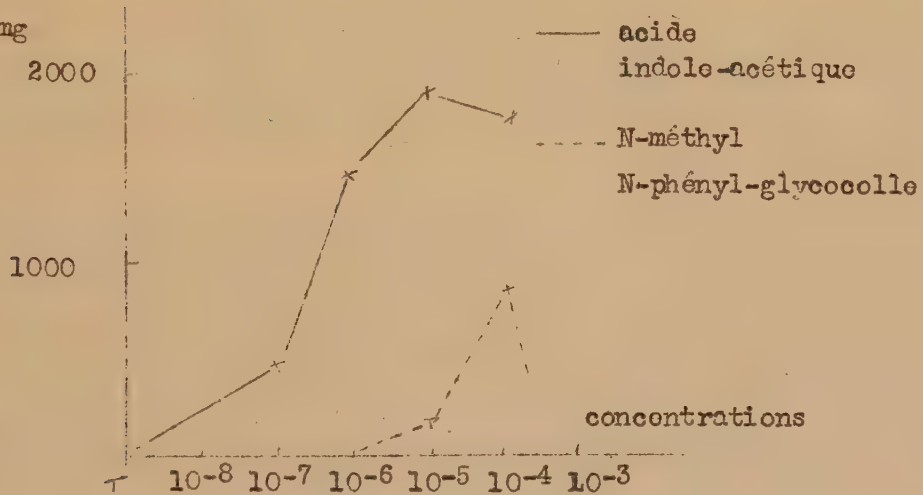


DIAGRAMME II

Tissus de topinambours

Croissance en mg

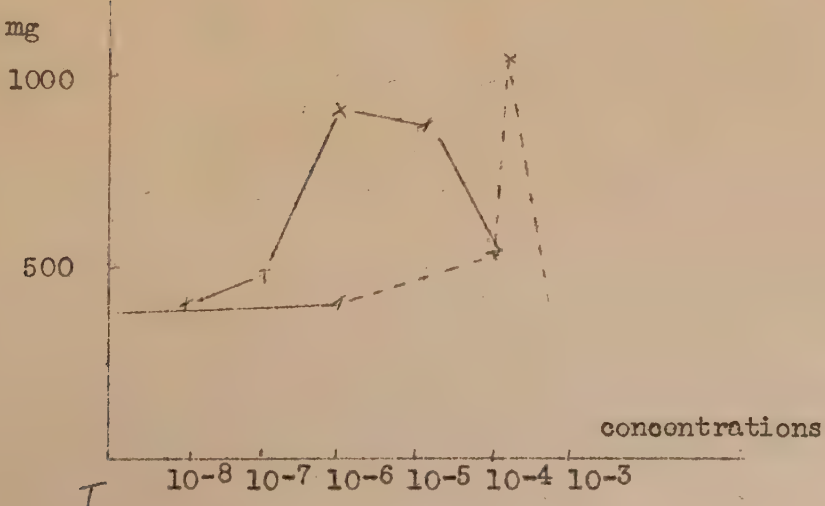


DIAGRAMME III

Tissus de carottes

Sur les tissus de carottes, l'optimum de croissance, obtenu avec une concentration de 2×10^{-4} en N-méthyl-N-phényl-glycocolle, est un peu supérieur à celui correspondant à une concentration de 10^{-6} en acide indol-acétique. Toutefois, à partir de 10^{-4} , la toxicité du N-méthyl-N-phényl-glycocolle se manifeste par la nécrose des tissus, rendant impossible tout repiquage.

L'acide o-toluidino-acétique est inactif, bien que le cycle azoté du noyau indole soit également amorcé. Dans cette molécule, le radical $-\text{CH}_2-\text{COOH}$ ne doit pas occuper une disposition spatiale compatible avec l'activité phytohormonale; la présence d'un troisième radical sur l'azote (c'est le cas du N-méthyl-N-phényl-glycocolle) doit déterminer une configuration convenable dans les trois dimensions. L'activité phytohormonale est conservée dans ce cas, mais à partir d'une certaine concentration, la croissance présente un caractère pathologique qu'on peut attribuer à la facile décomposition de l'acide en N-diméthyl-aniline.

III - Acides 5-méthyl et 6-méthyl-indol-butyrique (76) -

Des dérivés de l'acide indol-acétique, porteurs de substituants sur le noyau, ont déjà été préparés et soumis aux essais physiologiques. Les acides N-méthyl-indol-acétique et méthyl-2-indol-acétique (88) agissent, bien que faiblement, sur le coléoptile d'avoine. Le dérivé N-méthylé est environ 10 fois moins actif que le second.

La limite d'activité sur le pea-test des acides 5-méthoxy- et 6-méthoxy-indol-acétiques se situe à la concentration de 10^{-6} , celle de l'acide, porteur d'un méthoxy en 7, à 10^{-5} (24).

Ces résultats épars indiquent que la position d'un substituant déterminé sur le noyau indolique conditionne l'activité mais aucune recherche systématique n'a été réalisée dans ce sens.

Dans un autre domaine, Fildes et Rydon (83), étudiant toute la série des isomères méthyl-indoles pour l'inhibition de Salmonella typhi, montrèrent que trois d'entre eux (les composés 1, 2 et 3 méthyl) étaient dépourvus d'activité inhibitrice, les quatre autres inhibent la croissance en interférant dans la conversion de l'indole en tryptophane, l'ordre d'activité décroissante étant : 4-méthyl > 6-méthyl > 7-méthyl > 5-méthyl. L'inactivité de tous les composés contenant un méthyl sur le noyau pyrrole suggère que cette anneau est fortement en cause dans une liaison indole-enzyme. Toute substitution sur lui aboutit, probablement pour des raisons stéréochimiques, à l'impossibilité pour le métabolite modifié de se combiner avec l'enzyme. Pour le chimiste organicien, l'effet alternatif observé dans les activités inhibitrices des composés substitués sur le noyau benzénique suggère immédiatement que quelque mécanisme électrostatique affectant le groupement $-\text{NH}$ est en cause.

Guidés par de telles idées, nous nous étions proposés d'entreprendre l'étude de la série des acides méthyl-indol-butyriques, parents structuraux très proches de l'acide indol-acétique, et d'envisager les répercussions créées sur l'activité, suivant la position du $-\text{CH}_3$. Malheureusement, la synthèse ne nous a permis, pour le moment, que d'accéder aux composés nouveaux : les acides 5-méthyl et 6-méthyl-indol-butyriques. L'acide 7-méthyl-indol-butyrique n'a pas encore été obtenu, de telle sorte qu'il n'est pas

possible de tirer des conclusions générales.

C o r p s	Dilutions limites actives	
	Pea-test	Inhibition de la germination.
5-méthyl-indol-butyrique	10^{-5}	10^{-4}
6-méthyl-indol-butyrique	10^{-3}	inactif à 10^{-3}
indol-butyrique	10^{-6}	10^{-5}

== 3°) CHAPITRE == =====

ANALOGUES STRUCTURAUX DE PRECURSEURS DE L'ACIDE INDOL-ACETIQUE

- Introduction -

D'un point de vue théorique, on peut concevoir qu'un métabolite essentiel a une vie d'une certaine durée pendant laquelle il joue un rôle déterminé dans le métabolisme de la cellule. La vie de ce métabolite se définit comme un état d'équilibre entre les vitesses de synthèse et de destruction.

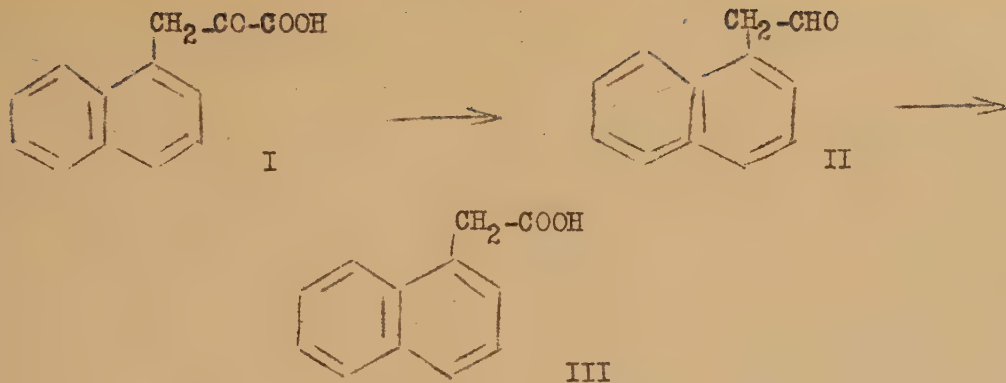
Soit un métabolite X. Il peut dériver de précurseurs A - B - C, etc ... par synthèse ou dégradation enzymatique. Il est ensuite dégradé en d'autres substances D - D, etc ...



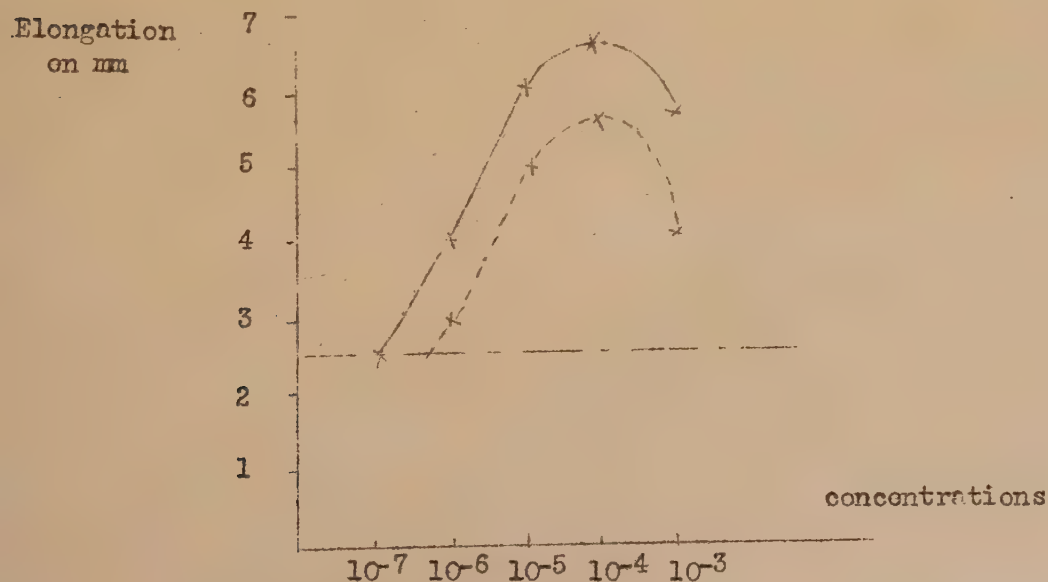
Cette suite de réactions constitue un chaînon métabolique qui doit fonctionner normalement pour assurer le développement harmonieux de la cellule. Supposons qu'une substance ayant une parenté structurale avec un des précurseurs du métabolite X puisse s'intégrer dans cette chaîne, ou bien cette substance subira une évolution normale conduisant à la formation de X ou d'un analogue de X capable de remplir les mêmes fonctions, ou bien elle bloquera le processus biochimique normal et il en résultera pour l'organisme une carence en X. La connaissance des différents stades d'un tel chaînon métabolique est de la plus haute importance en pharmacodynamie quand on veut déterminer une exaltation ou une inhibition du processus normal. Malheureusement, le problème est extrêmement complexe parce que l'on ignore presque toujours dans quelle mesure une substance est capable de pénétrer dans la cellule. On est alors réduit à observer les effets produits sur l'organisme pour savoir si la substance a réussi à s'intégrer dans la chaîne visée.

I - Acide α -naphtyl-pyruvique (I) -

L'acide indol-pyruvique qui constitue une des étapes de la dégradation du tryptophane en acide indol-acétique possède un net caractère phytohormonal dû, selon toute vraisemblance, à sa conversion en acide indol-acétique. Dans le chapitre précédent, on a souligné l'analogie de comportement des acides indol- et naphtyl-acétiques. Il paraissait donc probable que si l'acide naphtyl-pyruvique que nous avons synthétisé en collaboration avec D. Pillon (74) était capable de s'intégrer dans la suite de réactions qui aboutissent à la formation de l'hétéroauxine, il se formerait, in vivo, de l'acide α -naphtyl-acétique dont l'action se manifesterait sur les principaux tests. Les résultats biotiques consignés dans le tableau et les diagrammes suivants sont venus confirmer cette hypothèse.

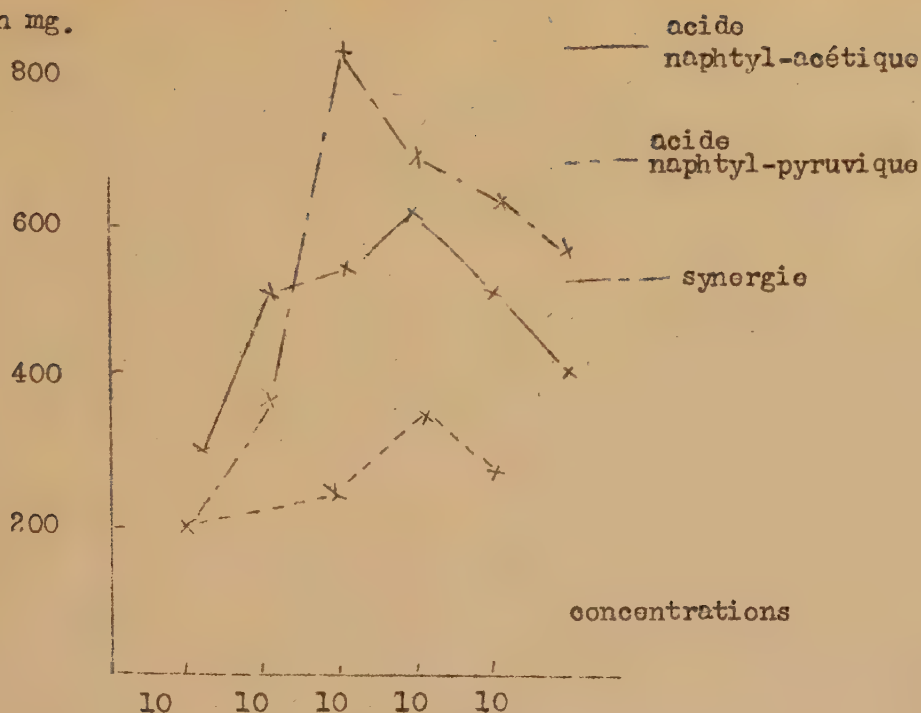


C o r p s	Concentrations limites où se manifeste l'activité biologique				
	Inhibition du photo-tropisme	Croissance anarchique	Inhibition de la germination	Test	Rhizo-génèse
Acide α -naphtyl-acétique	10^{-5}	10^{-4}	10^{-6}	10^{-6}	10^{-3}
Acide α -naphtyl-pyruvique	10^{-4}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-5}	10^{-3}
Acide α -naphtyl-acétyl-pyruvique	10^{-3}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-4}	10^{-2}



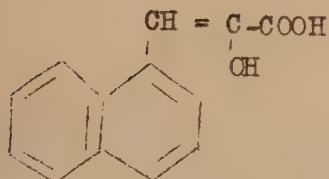
Test d'élongation

croissance en mg.

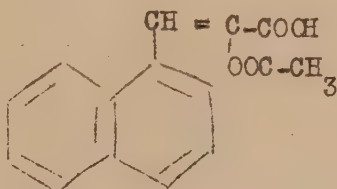


Tissus de carottes

Il apparaît que l'acide α -naphthyl-pyruvique présente une activité, sur les tests mis en jeu, sensiblement dix fois plus faible que celle de l'acide α -naphthyl-acétique, et que, même en augmentant la concentration en acide α -naphthyl-pyruvique dans les milieux de culture des tissus de carottes, on n'arrive pas à atteindre le développement optimum obtenu avec la dose la plus favorable d'acide α -naphthyl-acétique (69). On peut émettre deux hypothèses au sujet de ces comportements particulier. Certains corps possédant un groupement hydrophile ont plus de difficulté à traverser la membrane plasmique (98). Tel doit être le cas de l'acide α -naphthyl-pyruvique qui existe en solution sous forme partiellement énolique (III). Ce fait est confirmé par l'isolement du dérivé acétylé (IV).



III



IV

D'autre part, la transformation de l'acide α -naphtyl-pyruvique en acide α -naphtyl-acétique, par voie enzymatique, ne s'effectue certainement pas avec un rendement de 100 %. Cette dégradation doit passer par l'étape intermédiaire de l' α -naphtyl-acétaldéhyde (II), corps qui est facilement oxydé, comme l'a montré Ashby (2), par un broyat de racines en acide α -naphtyl-acétique.

II - Les aryl-phthalamates -

Au cours de recherches dans le domaine des phytohormones de synthèse, Hoffmann et Smith (40) ont montré que certains aryl-phthalamates (I) et aryl-phthalimides (II) déclenchent l'épinastie sur les tiges de tomates et se comportent comme les acides indol-acétique, naphtyl-acétique ou dichloro-2,4-phénoxy-acétique.



Les résultats de ce test ont induit les auteurs américains à considérer les corps de cette série comme doués d'activité phytohormonale. Cette conclusion était prématurée parce que, s'il est exact que toutes les hétéroauxines déterminent le phénomène de l'épinastie, la réciproque n'est pas absolue. L'activité phytohormonale doit être vérifiée par la mise en jeu d'autres tests spécifiques. Actuellement, de nombreux arguments tendent à prouver que les aryl-phthalamates seraient des analogues structuraux d'un peptide précurseur de l'acide indol-acétique.

A) - Particularités d'action biologique des aryl-phthalamates -

Les aryl-phthalamates ne donnent de réponse positive que dans les tests de l'épinastie et de la parthénocarpie. Ils n'agissent pas sur le pea-test, ne déterminent pas la rhizogénèse sur les tiges de lentilles mais leur action sur la culture des tissus et sur la germination de certaines plantes offre certaines particularités.

Si on fait agir l'acide α -naphtyl-phthalamique sur des cultures de tissus quelconques (carotte - crown-gall - scorzonère, etc ...), capables de proliférer en l'absence de substances de division, on observe une inhibition qui commence à se manifester nettement pour une dose de 10^{-5} et qui devient presque complète à 10^{-4} . S'il s'agit d'un tissu incapable de proliférer spontanément, tel que le parenchyme vasculaire de topinambour, on n'observe aucune action. Néanmoins, l'acide α -naphtyl-phthalamique possède des propriétés histogènes que l'on peut révéler en l'associant à l'acide indol-acétique. Il provoque alors une déviation des phénomènes histogènes, déviation caractérisée, selon Gautheret (28), par la formation de nodules ou de plages cribro-vasculaires dans lesquelles le liber est à l'intérieur et les cellules ligneuses à l'extérieur. Cette disposition est l'inverse de celle présentée par les organes normaux et par les tissus cultivés en présence d'acide indol-acétique.

Les aryl-phtalamates diminuent la perméabilité des cellules végétales vis-à-vis de l'eau, contrairement à l'acide indol-acétique. Nous avons déterminé ce fait expérimentalement. On fait pousser des lentilles dans des boîtes de Pétri; quand les tiges ont atteint 5 cm. de hauteur, on vaporise un lot avec 5 cm³ d'eau, un deuxième lot avec 5 cm³ d'une solution à 10⁻³ de naphthyl-phtalamate de sodium, un troisième lot avec 5 cm³ d'une solution à 10⁻³ d'indol-acétate de sodium. 48 heures après, on prélève sur chaque lot un nombre égal de tiges qu'on pèse avant et après dessiccation (2 heures à 100°). On détermine les rapports poids frais / poids sec :

Eau	9,2
Acide indol-acétique	9,6
Acide α -naphthyl-phtalamique	8,7

Canillot (17) a étudié systématiquement l'action des aryl-phtalamates sur la germination de plusieurs espèces de graines. Nos observations se sont limitées au blé et à la lentille.

Les monocotylédones s'avèrent peu sensibles, contrairement à la plupart des dicotylédones. L'action des composés étudiés a été observée dans les périodes germinative et post-germinative. Elle se traduit :

- chez la tige, par un ralentissement de la croissance, lié à un épaississement de la zone subterminale, par une inhibition du phototropisme, par un départ des bourgeons axillaires.
- chez la racine, par une inversion du géotropisme. Went et Nétien (65) ont constaté que l'action des aryl-phtalamates sur les racines de dicotylédones, les lentilles en particulier, est très différente de celle des hétéroauxines. En plongeant des graines dans une solution aqueuse d' α -naphthyl-phtalamate de sodium pendant 24 heures, leur taux de germination n'est guère modifié et la vitesse de croissance est la même que celle des témoins. Cependant, les racines qui apparaissent ont perdu la propriété de se diriger vers le sol; beaucoup se développent horizontalement, certaines présentent un géotropisme négatif. Pour de faibles concentrations, la vitesse de croissance des racines est accrue. L'inhibition du géotropisme disparaît au bout de quelques heures aux faibles concentrations (10⁻⁵ et 10⁻⁶). Ce trouble fait penser aux troubles réversibles qui affectent un animal recevant une dose sub-optimale de vitamines et nous a induit à penser que les aryl-phtalamates devaient jouer le rôle d'anti-métabolite dont l'action s'opposerait à celle d'un ou plusieurs métabolites impliqués dans le mécanisme biochimique du géotropisme. Dès lors, il nous a semblé intéressant d'étudier les rapports entre la structure chimique et l'activité biologique, dans cette série de composés, en vue de déterminer d'abord la nature et la disposition des groupements d'atomes dont le rôle est fondamental dans le déclenchement du phénomène, ensuite de rechercher le métabolite dont l'action pourrait être entravée par suite d'une ressemblance structurale avec l'anti-métabolite.

B) - Test de l'inhibition du géotropisme -

Afin de voir si les composés synthétisés avaient une action de même nature que le prototype et afin d'évaluer l'intensité de leur action, nous nous sommes servis du test de l'inhibition du géotropisme. Des lentilles (5 g.) sont plongées pendant 24 heures dans une solution d' α -naphtyl-phthalamate de potassium ou du composé à étudier. Après lavage à l'eau ordinaire, les graines sont soumises à la germination dans les conditions déjà décrites. A la température de 20°, les racines apparaissent après 24 heures. Nous avons admis que le produit utilisé pour le traitement exerce une action inhibitrice sur le géotropisme quand, à la concentration envisagée, 50 % au moins des racines s'allongent dans le plan horizontal, la pointe plus ou moins dirigée vers le haut. Les résultats concernant l'activité sont reproduits dans les tableaux I et II où a été indiquée la dilution limite active.

C) - Analogues structuraux de l'acide α -naphtyl-phthalamique -

A priori, la liaison peptidique -NH-CO- de l'acide α -naphtyl-phthalamique nous a semblé devoir jouer un rôle très important. En effet, cette liaison se retrouve également dans les aryl-carbonates Ar-NH-CO-OR (inhibiteurs de la croissance des végétaux, particulièrement des monocotylédones) et dans plusieurs peptides qui inhibent certains phénomènes biochimiques : citons la lycomarasmine, antagoniste de la strepogénine (106). C'est pourquoi, dans chacun des composés synthétisés, malgré la modification de structure apportée au restant de la molécule, le groupement NH-CO- a été conservé.

Tableau I

N°	Nom chimique	Formule développée	Formule brute	F	Conc. limite active	Réf.
I - Influence de la nature de R' (R = -naphyle)						
I	Acide α -naphthyl-phtalamique	$\begin{array}{c} \text{R-NH-CO-} \\ \\ \text{HO-OC-} \end{array} \text{C}_6\text{H}_4$	$\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{O}_3\text{N}$	220°	10^{-6}	(47)
II	Acide α -naphthyl-nitro-3-phtalamique	$\begin{array}{c} \text{R-NH-CO-} \\ \\ \text{COOH} \end{array} \text{C}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)$	$\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{O}_5\text{N}_2$	245°	10^{-6}	
III	Acide α -naphthyl-nitro-4-phtalamique	$\begin{array}{c} \text{R-NH-CO-} \\ \\ \text{COOH} \end{array} \text{C}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)$	$\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{O}_5\text{N}_2$	203°	10^{-6}	
IV	N-(α -naphthyl)-carboxy-2-nicotinamide	$\begin{array}{c} \text{R-NH-CO-} \\ \\ \text{COOH} \end{array} \text{C}_6\text{H}_4\text{N}$	$\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{O}_3\text{N}_2$	172°	10^{-6}	
V	Acide α -naphthyl-maléinamique	$\text{R-NH-CO-CH=CH-COOH}$	$\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}$	138°	inactif à 10^{-5}	

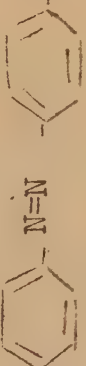
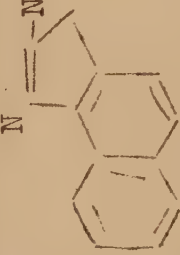
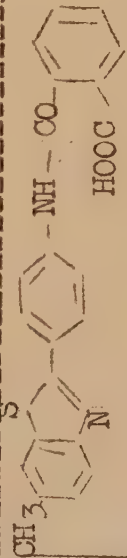
Tableau I (suite)

VI	Acide α -naphthyl-méthyl- maléinamique	$\text{R-NH-CO-CH=CH-COOH}$ CH_3	$\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{O}_3\text{N}$	158°	10^{-5}
VII	Acide α -naphthyl- succinamique	$\text{R-NH-CO-CH-CH}_2\text{-COOH}$	$\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{O}_3\text{N}$	171°	inactif à 10^{-3} (79)
VIII	Acide α -naphthyl-méthyl- succinamique	$\text{R-NH-CO-CH}_2\text{-CH-COOH}$ CH_3	$\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{O}_3\text{N}$	155°	10^{-4}
IX	Acide α -naphthyl-endo- méthylène-tétrahydro- phtalamique	R-NH-CO- HOOC- 	$\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{O}_3\text{N}$	160°	inactif à 10^{-4}
X	Acide α -naphthyl téréphthalamique	R-NH-CO- 	$\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{O}_3\text{N}$	292°	inactif à 10^{-3}

II - Influence de la nature de R

(R' étant un reste phtalyle)

XI	Acide phényl-phtalamique	 -NH-CO-R'	$\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}$	188°	10^{-4} (1)
----	--------------------------	---	--	-------------	---------------

XII	Ortho-carboxybenzoyl- amino-4-diphényle		$C_{20}H_{15}O_3N$	231°	10 ⁻⁵
XIII	Ortho-carboxy-benzoyl- amino-4-stilbène		$C_{22}H_{17}O_3N$	235°	10 ⁻⁴
XIV	Ortho-carboxy-benzoyl- amino-4-azobenzène		$C_{20}H_{15}O_3N_3$	252°	10 ⁻⁴ (95)
XV	Ortho-carboxy--benzoyl- amino-2-benzothiazol		$C_{15}H_{10}O_3N_2S$	243°	
XVI	Ortho-carboxy-benzoyl- amino-2-naphto-1,2- thioto luidine		$C_{19}H_{12}O_3N_2S$	280°	inactif à 10 ⁻⁴
XVII	Ortho-carboxy-benzoyl- amino-4-d'éhydro-thio- toluidine.		$C_{22}H_{16}O_3N_2S$	215°	10 ⁻³

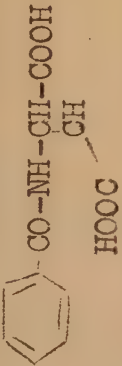
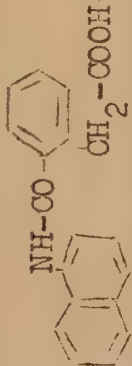
XXVIII	Ortho-carboxy-benzoyl-amino-2-phényl-4-thiazol		$C_{17}H_{12}O_3N_2S$	218°	10^{-5}
XIX	Acide β -naphthyl-phthalamique		$C_{18}H_{13}O_3N$	235°	10^{-6}
XX	Acide carbo-isopropoxy-4-phényl-phtalamique		$C_{18}H_{17}O_5N$	187°	10^{-4}
XXI	Acide sulfamide-4-phényl-phtalamique		$C_{14}H_{12}O_5N_2S$	322°	inactif à 10^{-3}

- 54 -

III - Influence de la distance entre les groupements (-NH-CO-) et (COOH).

XXII	Acide N-benzoyl-entralinique		$C_{14}H_{11}O_3N$	182°	inactif à 10^{-3} (15)
XXIII	Carboxy-2-diphényl-urée		$C_{14}H_{12}N_2O_3$	181°	inactif à 10^{-3} (71)

Tableau 1 - (suite)

XXIV	Acide N-benzoyl- aspartique		$C_{11}H_{11}O_5N$	119°	inactif à 10^{-3}	(50)
XXV	Acide α -naphthyl- homo-phthalamique		$C_{19}H_{15}O_3N_2$	220°	10^{-3}	

IV - Corps dépourvus du groupement -COOH libre

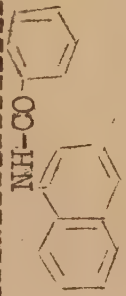
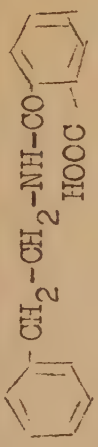
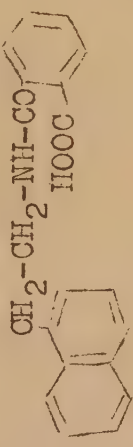
XXVI	Amide-N (α -naphthyl)- salicylique		$C_{17}H_{13}O_2N$	182°	inactif à 10^{-3}	(87)
XXVII	N-benzoyl- α -naphthyl- amine		$C_{17}H_{13}ON$	160°	inactif à 10^{-3}	

Tableau II

N°	Nom chimique	Formule développée	Formule brute	F	conc. limite active	Réf.
XXVIII	Acide phtalyl-phényl-ester		$C_{14}H_{10}O_4$	103°	inactif à 10^{-3}	(4)
XXIX	Acide N-phthaloyl-aspartyl- α -naphtylamide		$C_{22}H_{16}O_5N_2$	128°	inactif à 10^{-3}	
XXX	Acide N-phtalyl-glutamyl- α -naphtylamide		$C_{23}H_{18}O_5N_2$	230°	inactif à 10^{-3}	
XXXI	Phthaloyl-phényl-alanine		$C_{17}H_{14}O_4N$	183°-184°	inactif à 10^{-3}	(45)

TABLEAU II

XXXII	Acide phényl-éthyl- phthalamique		$C_{16}H_{15}O_3N$	170°	10^{-3}
XXXIII	Phthaloyl-tryptophane		$C_{19}H_{14}O_4N_2$	193°	inactif à 10^{-3}
XXXIV	Acide α -naphthyl-éthyl- phthalamique		$C_{20}H_{17}O_3N_2$	150°	10^{-3}

1 - Squelette fondamental nécessaire à l'activité -

En partant du schéma :



nous avons préparé une première série d'analogues structuraux de l'acide α -naphtyl-phthalaniqué en collaboration avec C. Lientzer et D. Molho. (66). Ignorant l'importance respective des radicaux R et R', nous avons d'abord recherché le squelette indispensable à l'inhibition du géotropisme. Dans ce but, nous avons préparé les corps mentionnés dans le tableau I et dosé leur activité. Ce travail préliminaire a permis de tirer quelques conclusions sur la structure indispensable à l'activité :

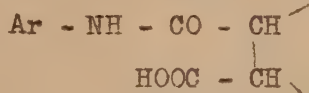
- pour que l'inhibition du géotropisme se manifeste, le reste R' doit comporter une fonction acide -COOH.

- le groupement -CO de la liaison peptidique et la fonction -COOH libre doivent être séparés par deux atomes de carbone. Le fait que ces deux radicaux soient séparés par trois atomes de carbone dans l'acide α -naphtyl-homo-phthalaniqué (XXV) ne peut être pris en considération; en effet, l'activité de ce composé est très faible (10^{-3}). L'oxydation de l'indène donnerait, outre l'anhydride homophthalique, un peu d'anhydride phthalique; cela expliquerait la présence de traces non décelables par l'analyse élémentaire d'acide α -naphtyl-phthalaniqué dans le dérivé homophthalaniqué et par suite la faible activité de ce composé.

- l'activité est maxima quand les deux groupes -CO et -COOH sont greffés sur un cycle, mais elle est maintenue si le cycle est simplement amorcé.

- le reste R peut être aromatique ou hétéro-cyclique. Un seul cycle suffit à la manifestation des propriétés mais le pouvoir inhibiteur est plus prononcé quand R comporte 2 cycles.

- la superposition des schémas représentant les différents corps actifs permet d'abstraire le squelette indispensable pour que l'inhibition du géotropisme se manifeste.



2 - Nature du métabolite, analogue structural des aryl-phthalanates -

Toutefois, cette structure élémentaire ne donnait aucune idée sur l'identité du métabolite normalement inoliqué dans le mécanisme biochimique du géotropisme. Tout au plus, pouvait-on émettre deux hypothèses de travail :

- le métabolite est un peptide dont les groupements chimiques importants (un groupe -COOH libre et une liaison peptidique -CO-NH-) ont la même disposition spatiale que celle des aryl-phthalanates.

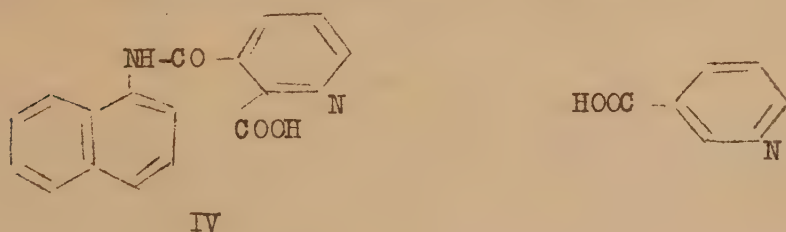
- à cause de cette analogie structurale, l'inhibition de la scission hydrolytique du métabolite par les aryl-phthalanates détermine une carence de la plante en un ou plusieurs facteurs, apparaissant quand l'hydrolyse enzymatique fonctionne normalement.

Pour vérifier ces hypothèses, nous avons mis en oeuvre plusieurs séries d'expériences basées sur le principe général suivant: quand un organisme, une bactérie par exemple, est inhibé dans son développement par une substance organique, on essaie de rétablir un développement normal en mettant dans le milieu, en même temps que l'inhibiteur, une ou plusieurs substances. Ainsi, la phényl-alanine, pour une certaine concentration, supprime l'inhibition de la croissance de *B. Coli* provoquée par la thiényl-ananine (68). Dans la recherche d'un antagonisme entre deux substances, plusieurs règles sont à observer :

- l'inhibiteur doit être utilisé de préférence à la dose limite active, afin que les effets primaires ne soient pas marqués par des effets secondaires.
- la substance, capable de rétablir la croissance, doit être essayée à plusieurs dilutions, car, si elle est, pour une concentration donnée susceptible de lever l'inhibition, pour une concentration plus forte, elle peut devenir elle-même inhibitrice.

Sur de telles données, nous avons essayé de rétablir le géotropisme des graines de lentilles inhibé par une dose limite d' α -naphthyl-phthalamate de sodium. Des graines sont plongées pendant 24 heures dans des solutions contenant du naphthyl-phthalamate de sodium à la concentration de 10^{-6} et des substances susceptibles de renverser l'action de ce corps.

La formule du IV suggérerait une analogie structurale entre les aryl-phthalamates et l'amide nicotinique.



mais il a été impossible de rétablir un géotropisme positif chez des lentilles traitées simultanément par l'acide α -naphthyl-phthalamique et l'acide ou l'amide nicotinique. Tout au plus, obtient-on une diminution du pourcentage de lentilles ayant un géotropisme négatif.

On pouvait aussi concevoir une parenté entre les aryl-phthalamates et des peptides renfermant l'acide aspartique; cependant, de tels composés n'exercent pas d'action inhibitrice et ne sont pas capables de neutraliser l'action des aryl-phthalamates.



Des résultats également négatifs ont été obtenus avec des acides aminés ou des mélanges d'acides aminés.

L'action des aryl-phthalamates sur le géotropisme des dicotylédones rappelle l'action observée par Boas (9) de l'éosine sur les monocotylédones. On s'est demandé si l'action de ce colorant ne serait pas due à la présence de traces de phtalyl-phényl-ester (XXVIII), isostère de l'acide phényl-phthalamique (XI). L'expérience a montré que l'isostère oxygéné n'agit pas sur le géotropisme des dicotylédones. Des arguments plus décisifs, semble-t-il, ont été apportés avec les corps suivants (tableau II) :

phtalyl-phényl-alanine (XXXI)
acide phényl-éthyl-phthalamique (XXXII)
Phthalyl-tryptophane (XXXIII)
acide α -naphtyl-éthyl-phthalamique (XXXIV)

Les dérivés phthaliques des deux acides aminés sont inactifs. La simple suppression d'un groupe $-\text{COOH}$ fait apparaître l'activité. De plus, il est précisé que le groupe $-\text{NH}$ n'a pas besoins d'être fixé sur un noyau aromatique. Enfin, insistons sur la ressemblance entre l'acide α -naphtyl-éthyl-phthalamique et l'acide indol-éthyl-phthalamique (corps que nous n'avons pas réussi à préparer), ressemblance qui fait pressentir que les aryl-phthalamates interviennent dans le métabolisme d'un peptide contenant le tryptophane.

D) - Discussion des résultats -

Deux groupements conditionnent l'activité : $-\text{NH}-\text{CO}$ et $-\text{COOH}$, certainement parce qu'ils confèrent à la molécule une polarité et des possibilités d'association avec des chaînes polypeptidiques.

Le groupe $-\text{CO}-\text{NH}-$ est extrêmement stable. Il ne peut être scindé par la pancréatine. Ceci a été prouvé de la manière suivante : une solution (100 cm³) de naphtyl-phthalamate de sodium à 10^{-5} est ajustée à pH 8 avec de la soude normale, additionnée de pancréatine (1 g) et abandonnée à l'étuve 24 heures à 37°. On alcalinise alors jusqu'à pH 10 avec de la soude, et on épuise la solution avec plusieurs volumes d'éther. Ceux-ci sont réunis et concentrés sous vide. Le résidu soumis à la chromatographie de partage sur papier ne décèle aucune trace d' α -naphtylamine qui apparaîtrait normalement s'il y avait eu une hydrolyse. Ce résultat fait penser que les aryl-phthalamates inhiberaient un enzyme protéolytique.

De plus, la ressemblance structurale qui existe entre les acides aryl-phthalamiques et la phtalyl-tryptamine et l'interprétation des résultats biologiques tendent à préciser que cet enzyme serait chargé de libérer un précurseur de l'acide indol-acétique. L'action sur les tests des acides aryl-phthalamiques ne doit être prise en considération que pour de faibles concentrations, car, pour des doses élevées, les effets secondaires sont difficiles à distinguer des effets primaires. Les aryl-phthalamates inhibent sélectivement le géotropisme des dicotylédones (l'élongation des racines peut être exaltée alors qu'elle est suspendue par l'acide indol-acétique aux mêmes concentrations). Ils inhibent les crown-gall, le scorzonère qui produisent eux-mêmes, comme l'a montré Kulesha (48), l'hétéro-

auxine mais ils n'entravent pas le développement des tissus hétérotrophes vis-à-vis de cette substance. Enfin, ils diminuent en teneur en eau des cellules végétales contrairement à l'acide indol-acétique.

Une carence en hétéroauxine rendrait aisément compte de tous ces faits. Cette carence serait due à l'inhibition d'une peptidase chargée de libérer à partir d'un peptide le tryptophane ou un proche parent. Cependant, il n'a pas été possible de renverser l'action des aryl-phthalamates par le tryptophane ou l'acide indol-acétique.

L'action inhibitrice des aryl-phthalamates, spécifique des crow-gall, souligne le grand intérêt de ces substances vis-à-vis des tumeurs cancéreuses qui se développent chez les animaux. En effet, Grutheret (19) a insisté sur l'analogie entre les cancers végétaux et animaux. On peut rapprocher de cette analogie biologique des constatations d'ordre biochimique qui laissent entrevoir le rôle que doit jouer le métabolisme de l'acide indol-acétique dans le développement des tumeurs. Les tissus cancéreux végétaux se singularisent par leur aptitude à synthétiser l'hétéroauxine, dans les urines de certains cancéreux, on a détecté un acide hydroxy-indol-acétique (38).

--- 4°) CHAPITRE ---
=====

ANALOGUES STRUCTURAUX D'ACIDES ARYLOXYACETIQUES

I - Arylglycocolles -

Le β -naphtyl-glycocolle (I) a un caractère phytohormonal du même ordre de grandeur que l'acide β -naphtoxy-acétique (II).



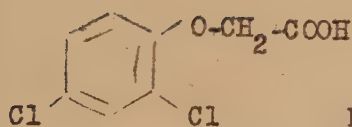
I



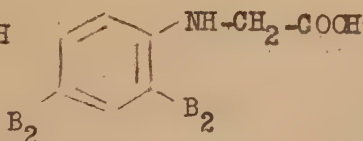
II

D'après cet exemple, le remplacement de l'atome d'oxygène de l'acide dichloro-2,4 phénoxy-acétique (III) par le groupement isostère -NH- devait logiquement conserver l'activité. Une autre raison (recherche d'un désherbant sélectif puissant) nous a amené à envisager l'exaltation possible des propriétés phytohormonales et de la toxicité en remplaçant le chlore par le brome et à préparer les corps nouveaux suivants :

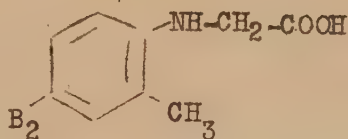
- dibromo-2,4 phényl-glycocolle (IV)
- méthyl-2 bromo-4 phényl-glycocolle (V)



III



IV

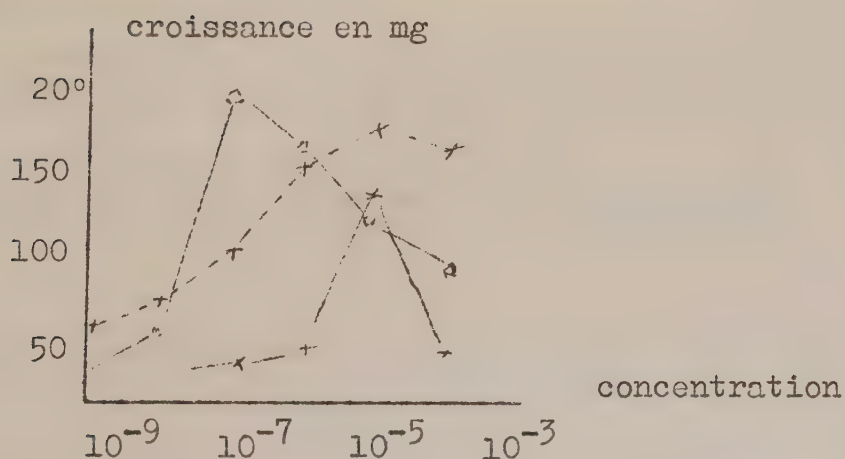


V

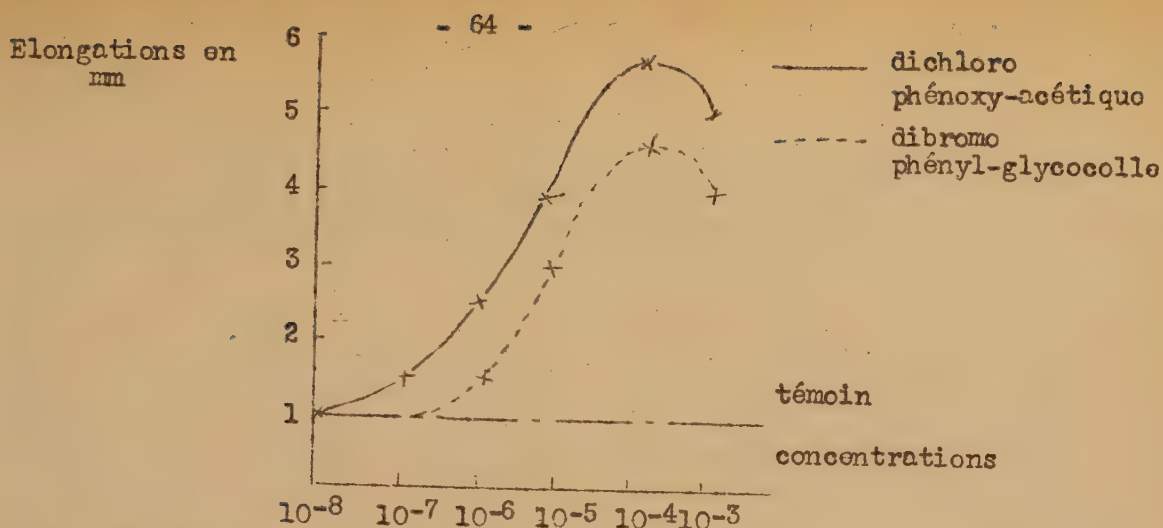
Les différents tests confirment que le caractère phytohormonal des acides aryloxy-acétiques se retrouve chez les aryl-glycocolles mais n'est pas augmenté (55). Soulignons que les aryl-glycocolles comme les acides aryloxy-acétiques sont dépourvus de pouvoir rhizogène vis-à-vis de la lentille.

Corps	Concentrations limites où se manifeste l'activité biologique				
	Inhibition du photo-tropisme	croissance anarchique	Inhibition de la germination	Pea-test	Rhizo-génèse
III	10^{-6}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	aucune action.
IV	10^{-5}	10^{-5}	10^{-5}	10^{-5}	aucune action.
V	10^{-5}	10^{-5}	10^{-5}	10^{-5}	aucune action.

---x--- Acide indol-acétique
 —x— dibromophénylglycocolle
 —o— dichlorophénoxyacétique



Action comparée de l'acide dichloro-2.4 phénoxy-acétique du dibromo-2.4 phényl-glycocolle et de l'acide indol-acétique sur le développement des tissus de topinambour.



Action comparée de l'acide dichloro-phénoxy-acétique et du dibromo-phényl-glycocolle sur le test d'élongation des segments de tiges de lentilles.

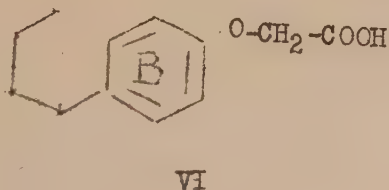
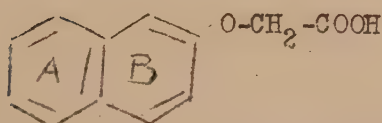
Le dibromo-2,4 phényl-glycocolle détermine la prolifération des tissus de topinambour (55) mais une augmentation de la concentration n'arrive pas à produire le développement maximum obtenu avec une concentration de 10^{-7} en acide dichloro-phénoxy-acétique ou de 10^{-5} en acide indol-acétique.

La similitude très étroite de comportement de l'acide dichloro-phénoxy-acétique et des aryl-glycocolles vis-à-vis des différents tests, semble aller de pair avec une analogie de l'action biochimique. Tous ces corps doivent être impliqués indirectement dans le métabolisme de l'acide indol-acétique. Selon Goldacre (30) l'acide dichloro-phénoxy-acétique active la vitesse de destruction de l'acide indol-acétique par l'enzyme contenu dans les tiges de pois étiolés. Il reste à savoir si ce phénomène a une portée générale, car de notre côté, nous allons le voir dans le prochain chapitre, nous avons montré que les acides aryloxy-acétiques inhibent la photooxydation de l'acide indol-acétique.

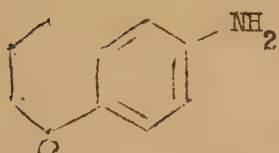
II - Acide p-propoxy-phénoxy-acétique -

Dans un précédent chapitre, nous avons prouvé que des corps à cycle potentiel tels que le N-méthyl-N-phényl-glycocolle, conservant une partie de l'activité de l'hétéroauxine.

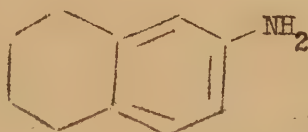
Cet exemple laissait supposer que des molécules, synthétisées à la ressemblance de l'acide β -naphthoxy-acétique (II) mais dont le cycle A ne serait pas fermé (VI), auraient encore le caractère du prototype.



Erlenmeyer (20) a préconisé, pour évaluer l'analogie chimique entre deux composés organiques, les techniques immuno-chimiques de Landsteiner (49). Ainsi, l'existence d'un cycle potentiel a pu être mise en évidence dans la p-propoxy-aniline (VII) par comparaison avec l'amino-6-tétraline (VIII).



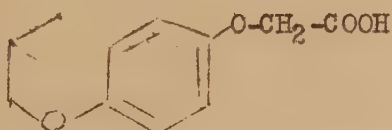
VII



VIII

Selon ces données expérimentales, la structure de l'acide p-propoxy-phénol-acétique (IX) devrait être la même que celle de l'acide β -naphthoxy-acétique. Et pourtant, le fait de couper le cycle fait disparaître toute activité biologique. Des raisons qui nous échappent encore doivent relier la forme des molécules au mécanisme biochimique.

IX



--- 5°) CHAPITRE ---
=====

INHIBITION DE LA PHOTOOXYDATION DE L'ACIDE INDOL-ACÉTIQUE
IN VITRO PAR DES SUBSTANCES A CARACTERE PHYTOHORMONAL
ET DES PHENOLS (75)

Introduction

En dehors de son intervention dans la photosynthèse, la lumière est capable de réaliser dans les organismes des dégradations. Les hétérocycles paraissent particulièrement sensibles aux radiations. Dès 1939, A. Berthelot et G. Amoureux (8) avaient mis en évidence la formation in vitro de l'acide indol-acétique à partir du tryptophane, quand celui-ci est soumis aux rayons ultra-violets. L'histidine et l'acide indol-acétique sont aussi rapidement dégradés par photo-oxydation.

Dans le phénomène du phototropisme, des mécanismes bio-chimiques déclenchés par la lumière, entrent en jeu; parmi ces mécanismes, il semble bien, d'après les travaux de Galston (25), que doit intervenir la photooxydation de l'acide indol-acétique.

La destruction d'une substance par la lumière peut être considérablement ralentie par une autre substance. Ainsi, Shyggar (89) a montré qu'on peut éviter la dégradation photochimique du tryptophane contenu dans le lyzosome à l'aide de la tyrosine et qu'en présence de cette substance l'enzyme est moins altéré.

Les substances à caractère phytohormonal :

acides α -naphtyl-acétique

dichloro-2,4-phénoxy-acétique

β -naphtoxy-acétique

α -naphtyl-phthalamique

ont parfois un comportement différent vis-à-vis du même test, mais elles ont souvent une analogie d'action. En particulier, elles inhibent le phototropisme de beaucoup de plantes (pois, lentilles, vesces, etc ...) quand on les vaporise en solution aqueuse sur les tigelles. En connaissance de ces faits, il était donc logique de se demander si les substances actives sur le phototropisme ne sont pas capables d'accroître ou de diminuer la vitesse de photooxydation de l'hétéro-auxine, in vitro, et si l'inhibition du phototropisme n'est pas, en conséquence, partiellement réductible à un trouble du métabolisme de l'acide indol-acétique.

I - Technique d'irradiation -

Les solutions contenant l'acide indol-acétique seul ou en présence d'autres substances, sont placées dans des bœchers de 100 cm³, présentant le même diamètre, afin que la surface d'irradiation soit la même. Elles sont soumises à la lumière d'une lampe à vapeurs de mercure, située à une distance déterminée (25 cm.) et fixe pendant toute la durée de l'expérience. Les bœchers sont toujours disposés à la même place pour recevoir un flux d'égale intensité. Afin de suivre la

cinétique de la photooxydation de l'acide indol-acétique, au temps 0, puis après 5 - 10 - 15 - 20 minutes d'irradiation, on effectue des prélèvements de 1 cm³ sur lesquels on pratique un dosage colorimétrique à l'électro-photomètre de P. Deunier, suivant la technique indiquée plus haut.

Les solutions soumises à l'irradiation ont été préparées ainsi :

	Témoins	Essais
Acide indol-acétique à 10 ⁻³	1 cm ³ .	1 cm ³ .
Eau distillée	1 cm ³ .	0
Substance à 10 ⁻³	0	1 cm ³ .
Tempon phosphate PH = 6	8 cm ³ .	8 cm ³ .

chaque solution contient donc au départ 100 γ/cm³ d'acide indol-acétique. Les témoins et les essais ne sont pas irradiés simultanément, car, dans nos conditions expérimentales, deux béciers placés côte à côte ne reçoivent pas une énergie lumineuse d'intensité rigoureusement égale. Mais, en plaçant successivement sous la lampe les solutions toujours dans la même position, il a été possible, comme l'ont montré de nombreuses expériences, d'avoir des résultats cohérents, avec une erreur relative égale ou inférieure à 5 %.

II - Dosage colorimétrique de l'acide indol-acétique -

A 1 cm³. de la solution, on ajoute successivement :

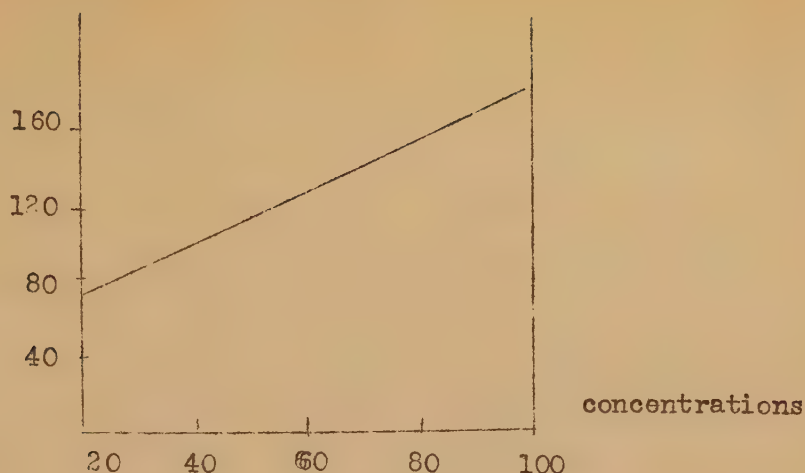
- 0,5 cm³. de perchlorure de fer (solution à 33° Bé diluée au 1/20).
- 0,5 cm³. d'acide sulfurique pur.

puis après 3 minutes, 4 cm³. d'eau distillée, afin d'être dans les limites de dosage du photomètre. Les mesures sont effectuées à l'électrophotomètre, en lumière monochromatique verte. La couleur rouge ou rose, suivant les concentrations en acide indol-acétique, à une stabilité suffisante : variation seulement d'une division par minute.

Avant d'étudier l'influence de certaines substances sur la cinétique de la photooxydation, nous nous sommes assurés que la présence des substances aux concentrations utilisées ne gêne pas le dosage colorimétrique. On a tracé une courbe d'étalonnage : division du photomètre en fonction de la concentration en acide indol-acétique.

Concentration en acide indol-acétique en γ/cm ³ .	100	80	60	40	20
Divisions du photomètre.	178	160	130	102	70

Division du
photomètre



Le dosage colorimétrique donne la quantité d'hétéroauxine restant en solution. La fraction oxydée est obtenue par un rapide calcul :

- soit Y le nombre de divisions du photomètre pour 100 γ /cm³.
- soit y le nombre de divisions du photomètre pour 20 γ /cm³.
- soit x le nombre de divisions du photomètre pour un dosage à un instant t de l'irradiation.

La quantité d'hétéroauxine détruite à l'instant t est :

$$\frac{80 \times (Y - x)}{Y - y}$$

III - Résultats -

Les quantités d'acide indol-acétique (IA) détruites en fonction du temps, ont été consignées dans le tableau et sur les diagrammes suivants :

Tableau des résultats

IA détruit en γ /cm ³ .	Temps en minutes						
	0	5	10	15	20	50	
IA seul.....	0	29	48	65	75	100	
IA + acide dichloro-phénoxy-acétique	0	16	28	44	55	75	
IA + α -naphtyl-phthalamique	0	14	29	49	58	75	
IA + acide α -naphtyl-acétique	0	29	48	65	75	100	
IA + acide phénoxy-acétique	0	24	43	55	65		
IA + acide α -naphtylamide-maléique	0	21	40	56	67		

IA détruit en γ/cm^3 .

Temps en minute.	0	5	10	15	20	50
IA + acide α -naphtylamide succinique	0	28	45	58	70	
IA + aminoéthane-thiol	0	25	44	55	67	
IA + phénol	0		28			
IA + p-chloro-phénol	0		29			
IA + β -naphthol	0		22			
IA + riboflavine	0	42	63	75	83	
IA + riboflavine + acide naphthyl-phtalamique	0	35	55	70	75	
IA + riboflavine + acide dichlorophénoxy-acétique	0	34	47	58	67	

DIAGRAMME I - courbe 1. IA seul.
courbe 2. IA + acide dichloro-phénoxy-acétique.

DIAGRAMME II - courbe 1. IA seul.
courbe 3. IA + acide α -naphthyl-phtalamique.
courbe 4. IA + acide α -naphtylamide-maléique.

DIAGRAMME III - courbe 3. IA + acide α -naphthyl-phtalamique.
courbe 5. IA + riboflavine ($2 \gamma/\text{cm}^3$).
courbe 6. IA + riboflavine ($2 \gamma/\text{cm}^3$) + acide naphthyl-phtalamique.

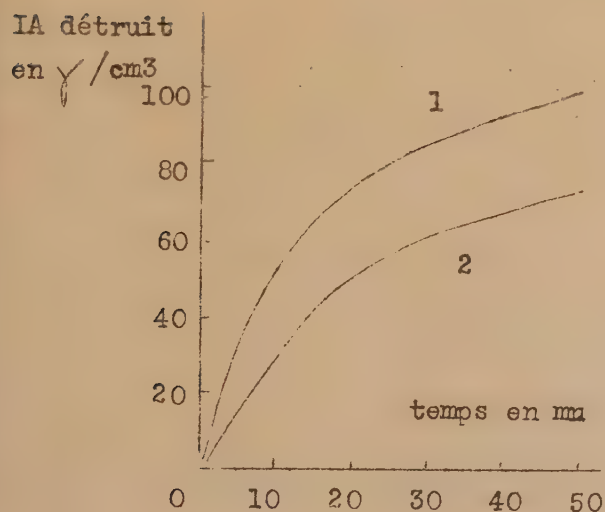


Diagramme I

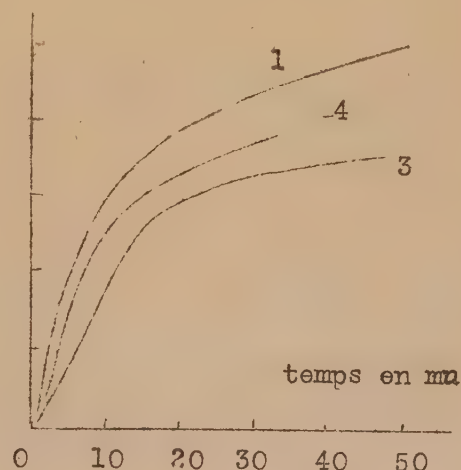
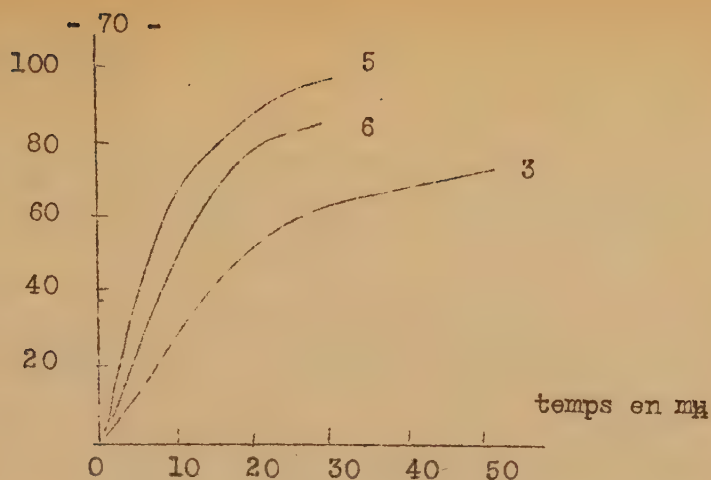


Diagramme II

IA détruit en
 γ /cm³.

Diagramme III



On a envisagé l'action, sur la vitesse de la photooxydation, non seulement de substances à caractère phytohormonal puissant, mais encore de déterminer s'il existe un parallélisme rigoureux entre les phénomènes biologique et physico-chimique.

L'expérience a montré que :

1°/ - les acides dichlorophénoxy-acétiques et α -naphtyl-phthalamique ralentissent très fortement l'oxydation par la lumière de l'hétéroauxine.

2°/ - l'acide α -naphtyl-acétique n'a aucune action.

3°/ - des substances inactives sur le phototropisme à la concentration de 10^{-4} ralentissent d'une façon appréciable la photooxydation :

- acide phénoxy-acétique
- acide α -naphtylamide-succinique-amino-éthane-thiol. (*)

4°/ - le rib flavine, comme l'a constaté Golston, accroit la vitesse de la photooxydation. De plus, l'inhibition déterminée par les acides dichlorophénoxy-acétique et α -naphtylphthalamique peut être levée, si on ajoute au milieu qui subit l'irradiation 2γ /cm³ de vitamine B₂.

5°/ - Divers phénols :

- phénol
- parachloro-phénol
- β -naphtol

ont un pouvoir inhibiteur sensiblement égal aux acides dichloro-phénoxy-acétique et α -naphtyl-phthalamique. Pour les phénols, on s'est contenté de déterminer l'inhibition au bout de 10 minutes d'irradiation.

(*) - Nous remercions les laboratoires LABAZ qui nous ont gracieusement fourni un échantillon de cette substance.

IV - Discussion -

Manifestement, d'après les expériences, l'inhibition de la photooxydation de l'acide indol-acétique ne paraît pas liée à l'activité phytohormonale : des substances actives sur les tests biologiques n'ont aucune action sur le phénomène physico-chimique et réciproquement.

Cependant, quelques hypothèses peuvent être émises pour concilier ces divergences. L'acide α -naphthyl-acétique peut agir, in vivo, selon un processus totalement différent des autres substances.

D'autre part, le mode d'action des acides aryl-oxy-acétiques est peut être réductible à celui des phénols pour deux raisons. In vitro, Les acides aryl-oxy-acétiques semblent libérer des phénols quand on les irradie. In vivo, il est aussi possible que se produise une réaction analogue sous l'action de certains enzymes.

Pourquoi alors les phénols vaporisés sur les plantes aux dilutions de 10^{-5} et 10^{-4} n'inhibent pas le phototropisme ? Sans doute, à cause de leur impossibilité de franchir la membrane plasmatique dont la perméabilité est très sélective comme l'ont montré les travaux de Veldstra (98).

En ce qui concerne le mécanisme d'action des substances inhibant la photooxydation de l'hétéroauxine, on ne peut invoquer leur absorption dans l'ultra-violet. En effet, les acides dichloro-phénoxy-acétique et α -naphthyl-phthalamique qui sont inhibiteurs et l'acide α -naphthyl-acétique qui ne l'est pas ont sensiblement le même spectre que l'acide indol-acétique, caractérisé par un maximum à 280 m μ . Il est plus vraisemblable que les substances protectrices sont oxydées préférentiellement.

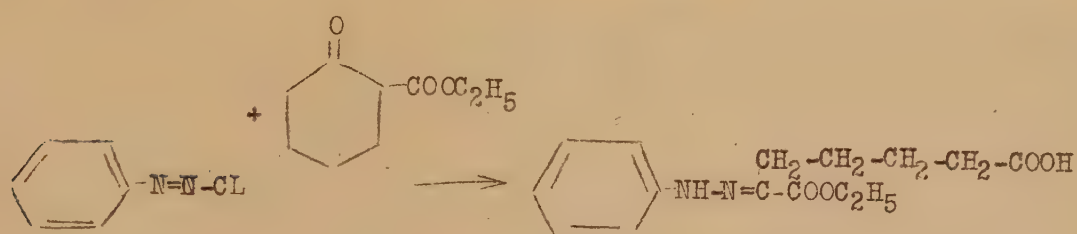
En résumé, il est possible de protéger in vitro, l'acide indol-acétique contre la photooxydation par différentes substances à caractère phytohormonal et divers phénols. Ces expériences et celles de Shugar (89) relatives à la destruction du tryptophane par la lumière ultra-violette s'intègrent dans une étude générale concernant la dégradation par différentes radiations de substances naturelles. Les rayons X sont particulièrement pénétrants et de ce fait nocifs pour les organismes vivants. Les substances atteintes par de telles radiations ne sont pas encore connues. Il y a lieu de supposer qu'il s'agit de corps contenant des hétérocycles ou des groupements SH. Déjà, on a réussi à protéger des animaux contre des doses léthales de rayons X en leur injectant de la morine (81), qui est une penta-hydroxy-flavone, ou de l'amino-éthane-thiol.

- TROISIEME PARTIE -
=====

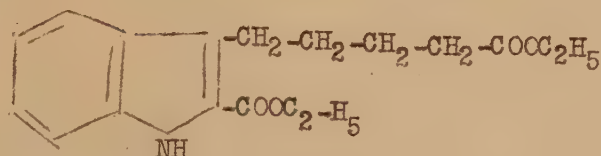
SYNTHESE DE COMPOSES NOUVEAUX

I - Synthèse des acide γ -(5-méthyl-3-indolyl) butyrique et γ -(6-méthyl-3-indolyl) butyrique (76).

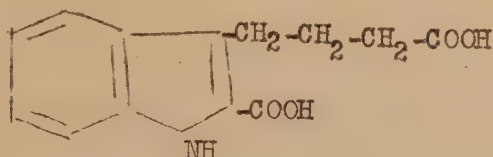
La technique utilisée pour synthétiser ces deux nouveaux corps est, du point de vue théorique, identique à celle que R.W. Jackson et R.H. Manske (44) ont mise au point pour l'acide γ -(3-indolyl)butyrique et que W.V. Feofilaktov (22) a adapté à la synthèse de l'acide γ -(3-indolyl) propionique. Cette technique consiste à copuler le chlorure de diazobenzène, en milieu alcalin, avec le cyclohexanone-carbonate d'éthyle et à cycliser, selon E. Fischer, la phényl-hydrazone du semi-ester de l'acide α -cétopimélique ainsi obtenue :



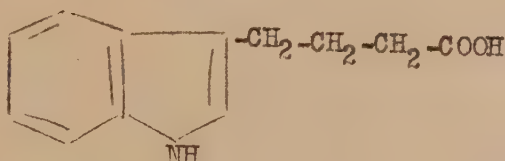
cyclisation



saponification



décarboxylation



En partant de la paratoluidine ou de la métatoluidine au lieu de l'aniline, on aboutit, après 4 étapes semblables, aux acides : γ -(5-méthyl-3-indolyl) butyrique et γ -(6-méthyl-3-indolyl) butyrique.

- Partie expérimentale -

I - Synthèse de l'acide γ -(5-méthyl-3-indolyl)-butyrique -

a) Méthyl-4-phényl-hydrazone du semi-ester de l'acide Acétopimélique.

A 37,7 g de p-toluidine (0,835 molécule), on ajoute lentement 200 cm³ d'acide chlorhydrique pur (d = 1,2); sur le chlorhydrate de p-toluidine refroidi par de la glace, on verse peu à peu, en agitant, 56 g de NO₂Na dissous dans 200 cm³ d'eau. Le chlorure de diazonium de la p-toluidine ainsi obtenu est maintenu à 0°; pendant ce temps, on prépare une solution de 200 g de KOH dans 500 cm³ d'eau qu'on refroidit. Pour opérer la copulation du chlorure de diazonium avec le cyclohexanone carbonate d'éthyle, introduire, dans un bœcher de 2 litres, 500 g de glace pilée et 136 g de cyclohexanone carbonate d'éthyle; puis en agitant continuellement, ajouter alternativement, par petites quantités, tantôt la solution de KOH, tantôt la solution de chlorure de diazonium. Vérifier de temps en temps, au papier de tournesol, que le milieu réactionnel demeure alcalin.

A la fin de la réaction, acidifier avec 160 cm³ d'acide chlorhydrique concentré, préalablement dilué de moitié et refroidi. La cœte rouge qui se forme est extraite, triturée dans un bœcher avec un agitateur afin d'éliminer le plus possible d'eau; on verse suffisamment de benzène ou de toluène pour tout dissoudre. Le semi-ester cristallise rapidement sous forme d'une poudre orange. F. = 155°, Rendement : 70 %.

b) γ -(2-carboxyéthyl-5-méthyl-3-indolyl) butyrate d'éthyle.

L'estérification du -COOH libre du corps précédent et la cyclisation sont effectuées simultanément en chauffant au reflux 15 g de ce corps dans 35 cm³ d'alcool absolu additionné de 4 cm³ d'acide sulfurique concentré. Le solvant est distillé sous vide. Le résidu huileux est dissous dans un mélange d'éther-benzène, lavé à l'eau puis au bicarbonate et séché sur SO₄Na₂. Le solvant est chassé sous vide. Le résidu, cristallisé dans l'éther de pétrole donne un corps amorphe, légèrement jaune, fondant à 65° - Rendement : 30 %.

c) Acide γ -(2-carboxy-5-méthyl-3-indolyl) butyrique.

La saponification du diester précédent est réalisée par KOH (2,4 mol.) en solution hydroalcoolique; chauffer 15 minutes au reflux. Après élimination de l'alcool sous vide et extraction de l'insaponifiable à l'éther, on précipite le diacide par l'acide acétique à 50 %. Après recristallisation dans l'eau, on obtient un corps blanc fondant à 200°.

d) Acide γ -(5-méthyl-3-indolyl) butyrique.

Le carboxyle en 2 du diacide est éliminé par chauffage pendant 10 à 15 minutes au bain métallique à 220-240°. Le résidu recristallisé dans l'eau fournit une poudre blanche, F. = 152°.

Analyse : C% calc. 71,88 - tr. 71,40
H% calc. 6,91 - tr. 6,96

2 - Synthèse de l'acide γ -(6-méthyl-3-indolyl) butyrique-

Les opérations sont effectuées dans les mêmes conditions et sur les mêmes quantités que pour l'acide méthylé en 5 sur le noyau indole

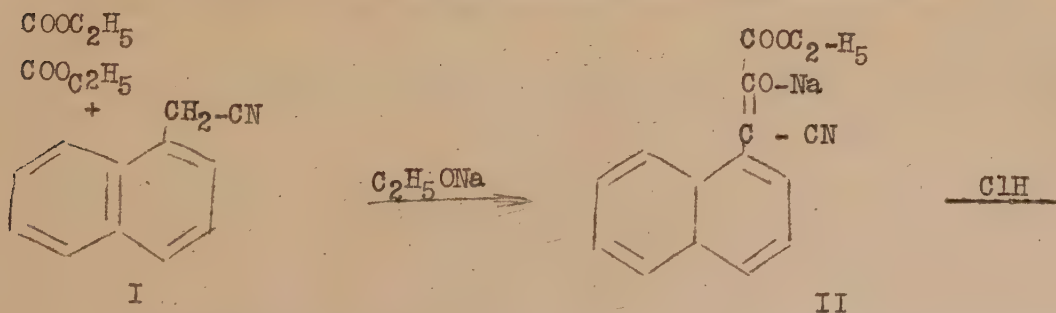
- a) Méthyl-3 phényl-hydrazone du semi-ester de l'acide α -cétopimélique : Poudre orangée, F. = 126°.
- b) γ -(2-carboxyéthyl-6-méthyl-3-indolyl)-butyrate d'éthyle
Eb_{3mm} = 215-225°.
- c) Acide γ -(2-carboxy-6-méthyl 3-indolyl)-butyrique :
F = 159°
- d) Acide γ -(6-méthyl 3-indolyl)-butyrique : F = 92°.

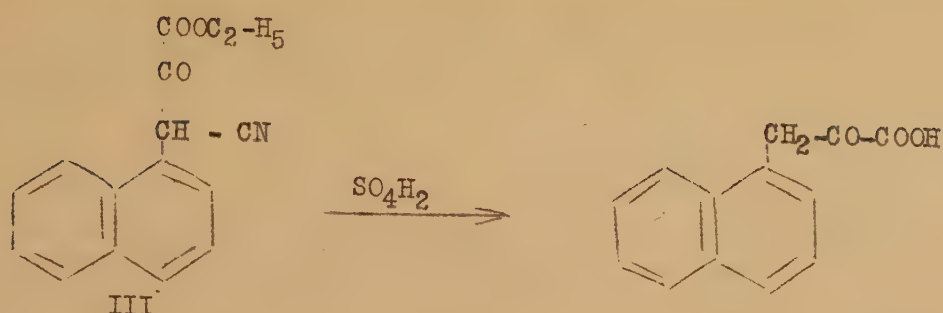
Analyse : C% calc. 71,88 - tr. 71,3
H% calc. 6,91 - tr. 6,85

II - Acide α -naphtyl-pyruvique (74) -

Nous inspirant des travaux d'Erlenmeyer (21) et de Mlle Hemmerlé (36) concernant la préparation de l'acide phényl-pyruvique, nous avons pensé préparer l'acide α -naphtyl-pyruvique à partir de l' α -naphtyl-acétonitrile, matière première qu'on se procure aisément puisque c'est une étape intermédiaire dans la synthèse de l'acide α -naphtyl-acétique.

L' α -naphtyl-acétonitrile (I) est condensé avec l'oxalate d'éthyle en présence d'éthylate de sodium. Il se forme le sel de sodium de la forme énolique de l' α -naphtyl-pyruvate d'éthyle - cyané (II), avec un bon rendement. L'action de ClH conduit à l'ester (III). Cet ester est décomposé à chaud par SO₄H₂ concentré.





Mais l'ester -cyané s'est révélé plus difficile à transformer que le dérivé phényle correspondant et la réaction se produit avec un mauvais rendement. D. Pillon (74) a amélioré la technique en partant du naphthyl-acétate d'éthyle.

- Partie expérimentale -

1 - α -naphthylpyruvate d'éthyle β -cyané -

Un mélange de 33,4 g d' α -naphthyl-acétonitrile et de 29,2 g d'oxalate d'éthyle est ajouté à l'alcoclolate de sodium obtenu par action de 4,6 g de sodium sur 50 cm³ d'éthanol absolu. Le précipité jaune qui apparaît au bout de quelques heures est essoré et lavé à l'éther anhydre. Après l'avoir dissous dans l'eau, on l'acidifie par ClH. Une huile se forme et se solidifie. C'est l'ester brut (III) qui, recristallisé dans l'acide acétique à 50 %, donne des cristaux blancs-jaunâtre. F = 113° - Rendement : 67,4 %.

2 - acide α -naphthyl-pyruvique -

8 g d'ester -cyané sont dissous dans 20 cm³ de SO₄H₂ concentré et 268 g d'eau. La solution est maintenue à l'ébullition pendant 3/4 d'heure, puis refroidie. Les cristaux apparus sont essorés et recristallisés plusieurs fois dans le chloroforme - F. = 165°-166°.

Analyse C% calc. 72,89 - tr. 71,95
H% calc. 4,67 - tr. 4,50

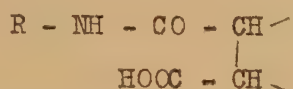
3 - Acétate de l'acide α -naphthyl-pyruvique -

On chauffe pendant une heure à l'ébullition 1,57 g d'acide dans 5 cm³ d'anhydride acétique, puis on ajoute à la solution 50 cm³ d'eau. L'huile obtenue donne une pâte qu'on recristallise dans l'éther F. 177°-178°.

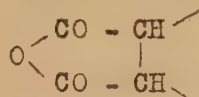
Analyse - Titrage à la soude N/20.
Poids moléculaire : calc. 256
tr. 254,7.

III - Arylphtalamates et analogues structuraux (66) -

Les dérivés nouveaux des tableaux I et II (2ème partie), correspondant au type :



ont été préparés par condensation, dans un solvant anhydre, d'amine primaire $\text{R} - \text{NH}_2$ et d'anhydrides :



On peut employer indifféremment le benzène, le toluène ou l'acétate d'éthyle anhydre. Ce dernier solvant a toutefois l'avantage de mieux dissoudre les anhydrides. Le phtalyl-tryptophane nécessite une préparation particulière.

Technique :

On dissout séparément dans le minimum de solvant, à l'ébullition, l'amine (1 mol.) et l'anhydride (1 mol.). La solution contenant l'anhydride est versée peu à peu dans celle qui contient l'amine. L'ébullition est maintenue quelques minutes. Par refroidissement, apparaît un précipité sableux qui est essoré puis repris dans une grande quantité d'eau bouillante et essoré à nouveau. Le produit obtenu n'a pas besoin de recristallisation, car dans ces conditions expérimentales, il ne se forme jamais de dérivé doublé.

Voici, réunis dans un tableau à titre d'exemple, quelques-uns des composés préparés selon cette technique.

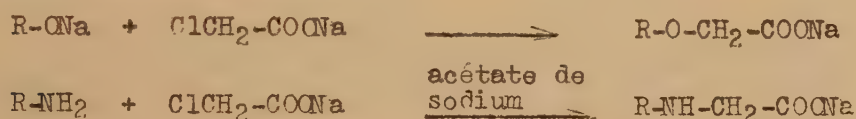
Formule développée		Formule brute	Analyse			Amine	Anhydride	milieu de réaction
			%	calc.	tr.			
	<chem>C15H10O3N2S</chem>	243°	C	60,4	59,7			toluène
	<chem>C19H12O3N2S</chem>	280°	C	63,92	64,5			toluène
	<chem>C15H15O3N2</chem>	220°	C	74,7	74,39			ben-zène.
	<chem>C22H16O5N2</chem>	128°	C	58,04	68,46			ben-zène.
	<chem>C19H14O4N2</chem>	193°	C	68,26	67,39			pyri-dine.

Phtalyl-tryptophane :

Il a été obtenu par condensation du tryptophane (1 mol.) avec l'anhydride phtalique (1 mol.) au sein de la pyridine anhydre portée à l'ébullition, sous reflux, pendant 3 heures. Le solvant est chauffé sous vide. La gomme visqueuse, refroidie est triturée avec un large excès d'acide sulfurique très dilué. Il se forme un précipité sableux, beige, qui est essoré puis dissous dans le bicarbonate de sodium à froid. Les impuretés sont alors extraites trois fois à l'éther puis l'acide libre est précipité de la solution aqueuse par l'acide sulfurique dilué. Deux recristallisations dans un mélange à volumes égaux d'eau et d'alcool éthylique donnent une poudre jaune clair. F = 193°.

IV - Analogues structuraux des acides aryloxyacétiques -

L'acide p-propoxy-phénoxyacétique et les N-aryl-glycocolles ont été préparés par condensation d'un phénol ou d'amines avec le monochloracétate de sodium :



- Partie expérimentale -

1 - Dibromo-2,4 N-phényl-glycocolle -

Matière première : dibromo-2,4 aniline préparée par bromuration de l'acétanilide, suivie d'une saponification (32).

Le dibromo-2,4 phényl-glycocolle a été préparé par deux voies différentes.

a) - Condensation de la dibromo-2,4-aniline avec le formol et le cyanure de potassium, en présence d'une solution alcoolique de potasse, suivant la technique utilisée par Schwalbe, Schüle et Jochheim (86) pour la préparation du dichloro-2,4 phényl-glycocolle. On a obtenu avec un très mauvais rendement un corps blanc fondant à 162°.

b) - Nous avons essayé avec succès une technique un peu semblable à celle utilisée pour la préparation du phényl-glycocolle (3). La dibromo-2,4 aniline (1 mol.) est condensée avec le monochloracétate de sodium (1 mol.), en présence d'acétate de sodium cristallisé (10 mol.) en milieu hydroalcoolique. Après 8 heures d'ébullition, l'alcool est chassé, l'excès de dibromo-aniline est entraîné par la vapeur d'eau et l'acide libre est précipité par SO_4H_2 dilué. Le corps, après essorage est recristallisé dans l'eau - F. = 165°.

Analyse : N calc. 4,53 %
tr. 4,47 et 4,5 %.

2 - Méthyl-2 bromo-4 phényl-glycocolle -

Matière première : méthyl-2 bromo-4 aniline préparée par bromuration de l'o-toluidine acétylée, suivie d'une saponification (107)

Cet acide est préparé suivant la même technique que le dibromo-phényl-glycocolle.

Analyse : N calc. 5, 73 %
tr. 5, 7 %

3 - Acide p-propoxy-phénoxy-acétique -

Matière première : le p-propoxy-phénol a été obtenu en chauffant à l'ébullition, sous reflux, pendant 4 heures, une solution hydro-alcoolique de bromure de propyle (1 mol.), d'hydroquinone (1 mol.) et de soude (1 mol.). L'alcool est chassé sous vide. La solution aqueuse est acidifiée par ClH. Le phénol libéré est extrait à l'éther puis distillé. Eb 25 mm = 150°-156° - F. = 50°-51°.

L'acide p-propoxy-phénoxy-acétique est obtenu en chauffant, en solution aqueuse, pendant 6 heures, un mélange de propoxy-phénol (1 mol.) d'acide mono-chloracétique (1 mol.) et de soude (2 mol.). L'acide libre est précipité à froid par ClH et recristallisé dans l'eau bouillante. F. = 110°.

Analyse : Dosage à la soude N/20
Poids moléculaire : calc. 210
tr. 207.

- CONCLUSIONS GENERALES -
=====

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la biochimie des hétéroauxines.

En exposant sommairement l'état actuel de nos connaissances sur le métabolisme de l'acide indol-acétique, nous avons insisté sur deux points :

- Les tests biologiques, utilisés pour doser les substances de croissance dans des milieux biologiques complexes, ne s'avèrent pas assez spécifiques malgré leur sensibilité pour permettre une identification certaine des facteurs détectés.

- Seule la biogénèse de l'acide indol-acétique est assez bien connue, parce que l'étude de la transformation des précurseurs se ramène, en dernière analyse, à un simple dosage de l'hétéroauxine. La dégradation de celle-ci, par contre, est encore très obscure.

Nous avons envisagé l'utilisation de la chromatographie de partage sur papier pour séparer et caractériser dans des milieux biologiques les facteurs de croissance en général et l'acide indol-acétique en particulier. Grâce à cette technique analytique, nous avons réussi à mettre en évidence la présence de l'acide indol-acétique dans un jus de pommes de terre hydrolysé par la pancréatine. Les résultats obtenus par d'autres auteurs confirment la valeur de cette technique aussi bien pour l'identification des facteurs de croissance que des inhibiteurs.

C'est encore à l'aide de la chromatographie de partage sur papier que nous avons pu identifier l'ortho-amino-acétophénone parmi les produits provenant de la dégradation de l'acide indol-acétique, in vitro, soit sous l'action de l'eau oxygénée en présence de molybdate d'ammonium, soit sous l'action de la lumière. Nous avons envisagé que ces réactions modèles pourraient représenter dans une certaine mesure le mécanisme des réactions enzymatiques qui ont lieu dans les plantes. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons étudié la dégradation de l'acide indol-acétique par un enzyme contenu dans les tiges de lentilles étiolées. Cet enzyme présente une certaine analogie avec un enzyme déjà mis en évidence dans les tiges de pois étiolés. Il est inhibé par le cyanure de potassium et semble de ce fait contenir un métal lourd comme groupement prosthérique. Il oxyde l'hétéroauxine en donnant une substance que nous séparée par chromatographie de partage sur papier et dont nous avons déterminé le spectre dans l'ultra-violet. Toutefois la nature de cette substance n'est pas encore établie; il ne s'agit par d'o-amino-acétophénone ni de son dérivé formylé. Son spectre, différent de celui de l'indol-aldéhyde, induit à penser qu'elle possède un noyau indole.

Le fait d'avoir pu montrer la présence de l'acide indol-acétique dans un hydrolysât de jus de pommes de terre offre une importance en ce qui concerne la signification physiologique de l'hétéro-auxine dans la croissance de la pomme de terre. En outre, nous avons constaté que les pommes de terres vieilles sont incapables d'inactiver l'acide indol-acétique contrairement aux pommes de terre

nouvelles. Ces résultats sont en parfait accord avec ceux d'autres auteurs et nous autorisent à avancer les conclusions suivantes :

Dans les tubercules de pommes de terre nouvelles, l'acide indol-acétique est inactivé sans être détruit par un enzyme; il entre en liaison peptidique avec une protéine. Dans les tubercules de pommes de terre vieilles, il n'est plus inactivé; la quantité qui existe à l'état libre est trop faible pour permettre la germination. Il faut attendre le printemps pour que la fraction mise en réserve soit libérée et stimule le développement des bourgeons.

La deuxième partie de ce travail a été consacrée aux hétéro-auxines de synthèse. Nous avons essayé de dégager quelques particularités des rapports analogie structurale - activité biologique.

L'acide naphtyl-acétique, grâce à sa ressemblance avec l'acide indol-acétique, est capable d'induire la rhizogénèse sur les tiges de lentilles et montre un synergie avec l'acide nicotinique, vis-à-vis de ce phénomène. Cependant, malgré la ressemblance très étroite entre le noyau naphthalène et le noyau indole, il ne peut être inactivé par un jus de pommes de terre; ce comportement paraît être conditionné par le groupement $-CH=CH-$, moins apte que le groupement $-NH-$ à une association transitoire avec l'enzyme.

Le caractère phytohormonal de l'acide indol-acétique est conservé mais l'intensité de l'action est diminuée chez des corps, de structure voisine, dont le noyau pyrrolique n'est qu'amorcé. Exemple : le N-méthyl-6-phényl-glycocolle.

Aucune recherche systématique, dans la série des acides indol-acétiques substitués, n'avait été réalisée sur les relations : activité - position d'un substituant déterminé sur le noyau indole. Nous avons abordé l'étude de ce rapport dans la série des acides indol-butyriques. L'acide β -(5-méthyl-3-indolyl)-butyrique est plus actif que le dérivé méthyle en 7. Mais nous n'avons pas encore achevé ce travail, car nous n'avons pas réussi à préparer l'acide β -(7-méthyl-3-indolyl)-butyrique.

L'acide α -naphtyl-pyruvique, isostère de l'acide indol-pyruvique, se comporte vis-à-vis des différents tests, mais à un degré moindre, comme l'acide α -naphtyl-acétique. Il semble bien qu'il soit converti en cette substance dans les cellules et qu'il s'intègre en conséquence dans le chaînon métabolique qui conduit du tryptophane à l'acide indol-acétique.

Les aryl-phthalamates ont fait l'objet de recherches détaillées relation structure-activité, mécanisme d'action. Les conclusions ne sont pas encore absolues mais de nombreux arguments ont été réunis qui tendent à prouver que les aryl-phthalamates sont des analogues structuraux d'une peptide précurseur de l'hétéroauxine et que leur action peut s'expliquer au moins partiellement par une carence en ce facteur de croissance.

Deux isostères nouveaux du type acide dichloro-2,4 phénoxy-acétique, les dibromo-2,4 et méthyl-2-bromo-4-phényl-glycocolle, présentent les caractères des acides aryl-oxyacétiques mais sont moins actifs. L'acide p-propoxy-phénoxy-acétique, bien qu'il reproduise à l'état potentiel un des cycles du noyau naphthalène de l'acide α -naphtoxy-acétique, est totalement dépourvu d'activité phytohormonale.

Beaucoup d'hétéroauxines de synthèse inhibent le phototropisme des dicotylédones. Nous avons établi qu'il n'existait pas de parallélisme entre ce phénomène et l'inhibition de la photooxydation de l'acide indol-acétique, in vitro, par différentes substances à propriétés phytohormonales et divers phénols.

Dans la dernière partie, sont décrites les synthèses de composés nouveaux :

- acide γ -(5-méthyl-3-indolyl)-butyrique
- acide γ -(6-méthyl-3-indolyl)-butyrique
- acide α -naphtyl-pyruvique
- acides aryl-phthalamiques
- phthalyl-tryptophane
- dibromo-2,4-phényl-glycocolle
- méthyl-2-bromo-4 phényl-glycocolle
- acide p-propoxy-phénoxy-acétique.

--- BIBLIOGRAPHIE ---
=====

- (1) - Anschütz R. Ber. 1887, 20, 3215
- (2) - Ashby W.C. - Bot. Gaz. U.S.A. 1951, 112, 327-350
- (3) - Beilstein - XII, 469
- (4) - Beilstein - IX, 801
- (5) - Bennet-Clark T.A., Tambiah M.S. et Kefford N.P. - Nature 1952, 169, 452
- (6) - Berger J. et Avery G.S. - Ann. J. Bot. 1944, 31, 199-203
- (7) - Berguer Y., Molho D. et Mentzer C. - C.R. Ac. Sc. 1950, 230, 760-762
- (8) - Berthelot A. et Amoureux G. - C.R. Soc. Biol. 1939, 131, 1234-6
- (9) - Boas F. "Dynamische Botanik" - Hanser Edit. - Munich 1949 - 287 p.
- (10) - Bonner J. - "Plant Biochemistry" - Academic Press Inc., Publishers - New-York 10, N.Y. 1950 - p.451.
- (11) - Boulanger P. et Bizerte G. - "Exposés annuels de Biochimie médicale" Onzième série, Masson Edit. - 1950, 272 p. - p.54 à 121.
- (12) - Bouriquet R. et Mentzer C. - C.R. Ac. Sci. 1951, 232, 1574-1576
- (13) - Bouriquet R. et Pachéco H. - C.R. Ac. Sc. 1952, 234, 234-237.
- (14) - Boysen-Jensen P. - Ber. Bot. Ges. 1910, 28, 118
- (15) - Brückner A. et Pini - Ann. 1880, 205, 131
- (16) - Bruin (O.A. de) - "Recherches dans le domaine des substances de croissance" - Thèse de Doctorat 1949 - Utrecht.
- (17) - Canillot R. - "Recherches sur l'activité de l'acide α -naphthyl-phthalamique sur les végétaux" - Thèse de Doctorat de l'Université de Lyon (section Pharmacie) - 1951.
- (18) - Dalgliesh C.E. Knox W.E. et Neuberger A. - Nature 1951, 168, 20
- (19) - Denny F.E. et Miller L.P. - Contrib. Boyce-Thompson Inst. 1935, 7, 97
- (20) - Erlennmeyer H. et Berger E. - Biochem. Z. 1932, 255, 429
- (21) - Erlennmeyer H. - Ann. Chemie 1892, 271, 173
- (22) - Feofilaktov V.V. - J. Chim. Gen. (U.R.S.S.) 1947, 17, 993-1004
- (23) - Ferri M.G. - Biochem. Biophys. U.S.A. 1951, 31, n° 1, 127-131
- (24) - Findlay P. et Dougherty G. - J. Biol. Chem. 1950, 183, 361
- (25) - Galston A.W. - a) Proc. Natl. Acad. U.S.A. 1949, 35, 10-17
b) Ann. J. Bot. 1949, 36, 773
c) Science 1950, 111, 619-624
- (26) - Galston A.W. - Plant Physiol. 1949, 24, 577-586
- (27) - Gautheret R.J. - Bull. Soc. Chim. Biol. 1942, 24, 13-41
- (28) - Gautheret R.J. et Lentzer C. - C.R. Soc. Biol. 1950, 26, 719
- (29) - Gautheret R.J. - "Le cancer végétal" - Endeavour 1950, IX, 21-25
- (30) - Goldacre P.L. - Australian J. Sci. Research - 1949 - (B) 2, 154-156
- (31) - Gordon S.A. et Sanchez Nieva F. - Arch. Biochem. 1949, 20, 356-367
- (32) - Griess P. - Ann. 121-266
- (33) - Haagen-Smit A.J., Dandliker W.B., Wittwer H.J. et Murneck A.E. Ann. J. Bot. 1946, 33, 118 - 120
- (34) - Hemberg T. - Physio. Plant. Danem. 1949, 2, 24-36
- (35) - Hemberg T. - Acta Hort. Beigani. 1948, 14, 133-220
- (36) - Hemmerlé (Mlle) - Ann. Chim. 1917 (9), 7, 226-276
- (37) - Heintschel W. - J. für Prakt. Chemie (2), 60, 80
- (38) - Hermann et Sachs - Z. für Physiol. Chemie 1921, 114, 88-93
- (39) - Heumann K. - Ber. 1891, 24, 978
- (40) - Hoffmann O.L. et Smith A.E. - Science 1949, 108, 588
- (41) - Holley R.T., Boyle F.P., Durfee H.K. et Holley A.D. - Arch. Biochem. Biophys. 1951, 32, 192-199

- (42) - Hubner H. - Ann. 1881, 208, 324
- (43) - Jones E.R.H. et Coll. - Nature 1952, 168, 485
- (44) - Jackson R.W. et Manske R.H. - J. Am. Chem. Soc. 1930, 52, 5029
- (45) - Kenao Seizo - C.A. 1950, 5810^d
- (46) - Koepfli J.B. Thimann K.V. Went F.V. - J. Biol. Chem. 1938, 122, 763
- (47) - Kögl F. Haagen-Smit A.J. et Erxleben Mlle - Z. Physiol. Chem. 1933, 214, 241-252 - 1933, 216, 31-44
- (48) - Kulesha Zoïa - "Recherches sur l'élaboration de substances de croissance par les tissus végétaux".
Thèse de Doctorat, 1951, Paris.
- (49) - Landsteiner K - J. Exp. Med. 1924, 39, 632
- (50) - La Parola - Gazz. Chim. Ital. 1937, 67, 481
- (51) - Larsen P. - Ann. J. Botany - 1949, 36, 32
- (52) - Larsen P. - "Formation, occurrence and inactivation of growth substances".
Annual Rev. of Plant Physiol. 1951, 169-198
- (53) - Lefèvre I. - C.R. Ac. Sci. 1938, 206, 1675-1677
C.R. Soc. Biol. 1939, 130, 225-227
- (54) - Linser H. - Planta 1951, 39, 377-401
- (55) - Longchamp R. et Pachéco H. - C.R. Ac. Sci. 1950, 231, 1555-1557
- (56) - Luckwill L.G. - Nature 1952, 169, 375
- (57) - Mentzer C. - "Les hormones végétales naturelles et synthétiques"
Actualités Scientifiques et industrielles -
Hermann et Cie Edit. 1949.
- (58) - Mentzer C. et Berguer Y. - C.R. Ac. Sci. 1952, 234, 627-629
- (59) - Mentzer C. et Meunier P. - Thérapie 1950, 5, 192
- (60) - Mentzer et Molho D. - C.R. Ac. Sci. 1950, 230, 406, 407
- (61) - Mentzer C. - "Ressemblance chimique et action synergique des molécules organiques" - Actualités pharmacodynamiques 1950, 159-178
- (62) - Mentzer C. - Bull. Soc. Chim. Biol. 1948, 30, 384-396
- (63) - Mentzer C. - C.R. Soc. Biol. 1948, 142, 523
- (64) - Mentzer C. Bull. Soc. Chim. Biol. 1948, 30, 384-396
- (65) - Mentzer C. et Nétien G. - Bull. Mens. Soc. Linn. Lyon 1950, 5, 102-104
- (66) - Mentzer C. Molho D. et Pachéco H. - Bull. Soc. Chim. Biol. 1950, 32, 571-582
- (67) - Moewus F. - Z. Naturforschung 1948, 36, 135-136
- (68) - Molho D. et Molho-Lacroix L. - Bull. Soc. Chim. Biol. 1950, 32, 680-686
- (69) - Nétien G. et Beauchêne G. - C.R. Soc. Biol. 1951, 145, 1327-8
- (70) - Paal C. - Ber. Bot. Ges. 1914, 32, 499
- (71) - Paal C. Ber. 1894, 27, 978
- (72) - Pachéco H. - Bull. Soc. Linn. Lyon 1950, n° 4, 84-88
- (73) - Pachéco H. - Bull. Soc. Chim. Biol. 1951, 33, 1915-1918
- (74) - Pachéco H. et Pillon D. - Bull. Soc. Chim. Biol. 1951, 33, 96-108
- (75) - Pachéco H. - Bull. Soc. Chim. Biol. - sous presse -
- (76) - Pachéco H. - Bull. Soc. Chim. 1951, 18, 633
- (77) - Pachéco H. - C.R. - Soc. Biol. - 1950, 144, 10-12
- (78) - Pavillard O. - Rev. Gén. Bot. 1949, 56, 541
- (79) - Pellizari G. et Matteucci V. - Ann. 1888, 248, 158
- (80) - Piutti - Gazzetta 1885, 15, 480
- (81) - Reacke-Fels I.D. - Wang C.H. - Robins R.K. et Christensen B.E.
J. Org. Chem. 1950, 15, 627-630
- (82) - Reckers P.E. et Field J.B. - J. Clin. Invest. 1949, 28, 246
- (83) - Rydon H.N. - Bull. Soc. Chim. Biol. 1948, 30, 758-769
- (84) - Sachs - Arb. Bot. Inst. Würzburg 1880, 2, 452
1882, 2, 689

- (85) - Salkowski E. - Z. für Physiol. Chem. 9, 16-25
- (86) - Schwalbe, Schule et Joshleim - Ber. 11, 3794 (1908)
- (87) - Senier A. et Shepheard D.G. - J. Chem. Soc. 1909, 95, 441
- (88) - Sexton W.A. - "Chemical Constitution and Biological Activity"
Spon's industrial chemistry series - London -
1949
- (89) - Shugar D. - Bull. Soc. Chim. Biol. 1951, 33, 710
- (90) - Skog F. et Thimann K.W. - Science (New-York) 1940, 92, 64
- (91) - Smith A.L. - Am. J. Bot. 1945, 32, 271-276
- (92) - Tabone J. Robert D. et Troastler J. - Bull. Soc. Chim. Biol.
1948, 30, 547-552
- (93) - Tang Y.W. et Bonner J. - Arch. Biochem. 1947, 13, 11
- (94) - Tang Y.W. et Bonner J. - Am. J. Bot. 1948, 35, 570
- (95) - Theilacker W. Chem. Ber. 1949, 82, 191
- (96) - Thimann K.V., Skog F. et Byer A.C. - Am. J. Bot. 1942, 29, 598
- (97) - Tringle J.R. et Rolker H.F. - J. Am. Chem. Soc. 1908, 30, 1891
- (98) - Veldstra H. - Bull. Soc. Chim. Biol. 1948, 30, 772-791
- (99) - Warunis T. et Sachs F. - Ber. 1904, 37, 2637
- (100) - Went F.W. - Rec. Trav. Bot. Neerland. 1928, 25, 1
- (101) - Went F.W. et van Overbeck J. - Bot. Gaz. 1937, 99, 22-41
Went F.W. - Proc. Kon. Acad. Wet. Amst. 1934, 37, 547-555
- (102) - White E.P. - New Zealand J. Sci. Tech. 1944, 25B, 137
cité par Bonner J. (Plant Biochemistry)
- (103) - Wildman S.G., Ferri M.G. and Bonner J. - Arch. Biochem. 1947, 13, 131
- (104) - Wildman S.G. et Bonner J. - Arch. Biochem. 1947, 14, 381
- (105) - Witkop - Ann. 1944, 556, 103-104
- (106) - Woolley D.W. - J. Biol. Chem. 1948, 172, 71
1948, 176, 1391
- (107) - Wroblewski E. - Ann. 168, 162
- (108) - Zimmermann P.V. et Hitchcock A.E. - Contr. Boyce-Thompson Inst.
1938, 3, 463-518

Tables des matières

	<u>pages</u>
- Introduction	6
- <u>Première partie</u>	
"Du métabolisme de l'acide indol-acétique"	9
1er chapitre : "Etat actuel de nos connaissances sur le métabolisme de l'acide indol-acétique"	10
2ème chapitre : "Sur une nouvelle méthode d'étude du métabolisme de l'acide indol-acétique"	14
I - Identification de l'acide indol-acétique dans un milieu biologique	14
II - Identification des produits de dégradation de l'acide indol-acétique	17
3ème chapitre : "Signification physiologique de l'acide indol-acétique dans les tu- bercules de pommes de terre"	27
- <u>Deuxième partie</u> -	
"Analogie structurale et activité phytohormonale"	30
1er chapitre : "Analogie structurale et activité physiologique"	31
2ème Chapitre : "Analogues structuraux de l'acide indol-acétique"	38
3ème Chapitre : "Analogues structuraux des précur- seurs de l'acide indol-acétique"	45
4ème Chapitre : "Analogues structuraux d'acides aryloxyacétiques"	62
5ème Chapitre : "Inhibition de la photooxydation de l'acide indol-acétique <u>in vitro</u> par des substances à caractère phytohormonal et des phénols"	66
- <u>Troisième partie</u> -	
"Synthèses de composés nouveaux"	72
- <u>Conclusions générales</u> -	81

Deuxième Thèse

=====

Propositions données par la Faculté :

"MECANISME CHIMIQUE DE LA PHOTOSYNTHESE"

Vu
Les Membres du Jury

MM. KUENER
MENTZER
COLONGE

Vu et Approuvé :
Le Doyen de la Faculté
des Sciences de Lyon

R. DOUIN

Vu et permis d'imprimer

LYON, le 15 mai 1952

Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université

A. ALLIX -

